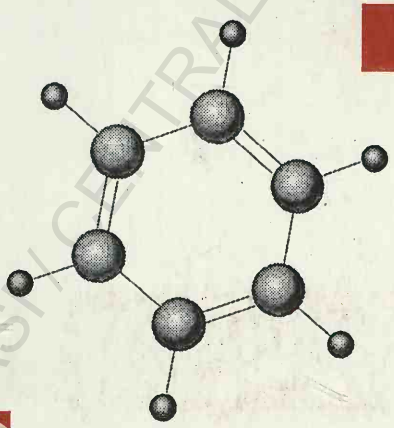
GABI DROCHIOIU
IONEL MANGALAGIU
IOAN DRUȚĂ

ELEMENTE DE TEORIE ȘI PRACTICĂ TOXICOLOGICĂ



BIBLIOTECA CENTRALĂ UNIVERSITARĂ
C 5642

Casa Editoriala Demiurg

C115.642

G. Drochioiu I. Mangalagiu I. Druță

Elemente de teorie și practică toxicologică

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Lucrare editată în cadrul proiectului CNCSIS cod 109, cu sprijinul financiar al Guvernului României şi al Băncii Mondiale.

Colecţia **Technos, 4**

Colecţia apare sub coordonarea lui Abdelkrim Azzouz.

1. A. Azzouz, *Ingineria proceselor tehnologice*, vol. I.
2. A. Azzouz, *Tehnologie şi utilaj în industria laptelui*, partea I-III
3. A. Azzouz, *Utilaj şi tehnologie în industria laptelui. Îndrumar.*

Consilier editorial: dr. Alexandrina Ioniţă

Aleea Trandafirilor nr. 34, bl. A 11, sc. B, parter, ap. 2, 6600 - Iaşi
tel. 032/257033
E-mail: iionita@mail.dntis.ro

© Casa Editorială *Demiurg*
Reproducerea în orice formă, inclusiv prin xerocopiere, fără acordul scris al editurii, intră sub incidenţa legii drepturilor de autor.

ISBN: 973-8076-21-8

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

G. Drochioiu I. Mangalagiu I. Druță

Elemente de teorie şi practică toxicologică

136560
B.C.U. - IASI

Iaşi, 2001
Casa Editorială *Demiurg*

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

CUPRINS

CONSIDERAȚII TEORETICE 9
1. NOȚIUNI GENERALE 9
2. ETAPELE INTOXICAȚIEI 23
3. TOXICODINAMIA 44
4. TOXICOLOGIE INDUSTRIALĂ 79
5. ACIDUL CIANHIDRIC 88
6. DETERMINAREA ALCOOLILOR 98
7. HIDROGENUL SULFURAT 107
8. DIOXIDUL DE SULF 112
9. AMONIACUL 114
10. DETERMINAREA ACIDULUI SALICILIC 120
11. DETERMINAREA DINITRO-O-CREZOLULUI 126
12. DETERMINAREA ACIDULUI OXALIC 134
13. DETERMINAREA ACIDULUI PICRIC 136
14. DETERMINAREA OXIZILOR DE AZOT 139
15. DETERMINAREA ALCALOIZILOR DIN ERGOT ... 142
16. DETERMINAREA NICOTINEI 146

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ 149

BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Motivație

Lucrarea reprezintă numai o introducere în vasta şi complexa problematică a toxicologiei, ştiinţă tot mai implicată în viaţa noastră de fiecare zi. Studenţii biochimişti, cărora le este adresată, vor găsi în ea un îndemn de investiga relaţia dintre structura şi proprietăţile toxicologice ale substanţelor, dintre biostructura organismelor vii şi efectul unor noxe existente în mediul înconjurător. De asemenea, aceştia sunt invitaţi să realizeze determinări în laborator similare celor din laboratoarele de toxicologie şi să interpreteze totodată rezultatele obţinute, punându-şi întrebări referitoare la metodologia de lucru şi la relaţia doză-efect toxic-măsuri de prim ajutor-diagnostic de laborator. Fiind o introducere în domeniu, investigaţia toxicologică trebuie completată cu cercetarea literaturii de specialitate – câteva titluri fiind indicate la sfârşitul acestei lucrări – şi cu executarea a cât mai multe analize de laborator. În plus, această modestă apariţie ar putea interesa şi pe elevii de liceu, precum şi un public mai larg interesat de problemele puse în discuţie.

Autorii

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

CONSIDERAȚII TEORETICE

1. NOȚIUNI GENERALE

Obiectul toxicologiei. Noțiunea de toxic

Toxicologia are ca obiect de studiu substanțele toxice: originea, proprietățile fizice, chimice și biologice, izolarea, identificarea și dozarea, mecanismele lor de acțiune și măsurile de combatere a acțiunilor nocive.

Toxicii pot avea origine naturală sau sintetică. Aceștia pot fi produși de plante (alcaloizi, glicozizi), de animale (ptomaine, veninuri), de mucegaiuri (micotoxine), etc.

Cunoașterea proprietăților toxicilor este necesară pentru a înțelege mecanismele de acțiune toxică care conduc la leziuni biochimice sau la alterări histologice și pentru stabilirea metodologiei de analiză. De asemenea, izolarea, identificarea și dozarea toxicilor sunt necesare atât pentru supravegherea mediului (aer, apă, alimente), cât și pentru stabilirea circuitului toxicilor în organism.

Combaterea nocivității toxicilor presupune tratarea lor, precum și elaborarea de măsuri profilactice și stabilirea concentrațiilor maxime admisibile.

Multe dintre medicamentele utilizate în prezent au un potențial toxic. Asemănarea dintre toxic și medicament a fost observată încă din antichitate. Grecii foloseau termenul de "pharmakon" cu sensul atât de medicament, cât și de otravă.

Substanțele străine corpului prezintă structuri și proprietăți diferite și sunt transformate în corp în substanțe proprii acestuia, printr-un efort desfășurat de către organism. Pentru a le degrada, organismul trebuie să le recunoască. În general, toate substanțele, chiar și cele alimentare obișnuite, luate în cantitate prea mare devin toxice, deoarece organismul nu este capabil sa le digere, să le transforme.

Pentru degradarea și asimilarea metaboliților, corpul face un efort care-l fortifică așa cum se întăresc mușchii ca urmare al efortului gradat continuu. Dacă solicitările depășesc posibilitățile organismului, acesta, dimpotrivă, slăbește. Aceste substanțe se comportă atunci ca toxice.

Toxicul își poate manifesta acțiunea în mod direct prin reacția sa cu unele componente ale corpului (cianurile reacționează cu ionii Fe^{3+} din citocromoxidaza pe care o inactivează) sau indirect, prin produșii săi de degradare (formaldehida și acidul formic proveniți din metanol sunt, la rândul lor, toxici).

De asemenea, unii toxici cu acțiune lentă, cum ar fi substanțele cancerigene, *solicită* organismul, până la epuizare energetică într-un proces de îndepărtare al acestora sau a produselor lor de degradare. În acest caz, toxicii se manifestă pasiv, iar organismul uman sau animal *reacționează* nespecific.

Tipuri de toxice. Intoxicații

Toxicii se clasifică după următoarele criterii:

— *Origine*: toxici minerali, animali vegetali sau sintetici;

— *Constituție chimică:* toxici anorganici, organici etc.

— *Comportare analitică*: toxici gazoși, volatili, minerali, organici nevolatili, acizi, baze, oxidanți etc;

— *Comportare fiziopatologică*: toxici cu acțiune asupra: sistemului nervos central, sistemului nervos vegetativ, aparatului respirator, sistemului cardiovascular, sângelui și organelor hematopoietice.

— *Domeniu de utilizare și proveniență*: toxici industriali, medicamente, plante toxice, pesticide, detergenți, materiale plastice, aditivi alimentari, toxine (zoo- și fitotoxine), substanțe toxice de luptă.

Intoxicația reprezintă ansamblul de semne și simptome – constituind o stare patologică – care se instalează după pătrunderea unui toxic în organism. Ca urmare se produce dereglarea, alterarea sau chiar abolirea unor funcții vitale, uneori cu sfârșit letal. Hans Selye (1984) constată în cazul *tuturor agresiunilor*, inclusiv a intoxicațiilor, o reacție stereotipă din partea organismului afectat. A numit-o sindrom general de adaptare, deoarece aceasta permite corpului să răspundă activ factorilor din mediul extern. Sindromul general de adaptare cuprinde mai multe faze, și anume: o fază de alarmă, o fază de adaptare și, în fine, una de epuizare, în care caz sistemele de protecție ale corpului sunt depășite. În oricare din aceste etape de răspuns la agresiunea toxicului, în funcție de intensitatea acestuia, animalul sau omul pot muri. Toxicii cu acțiune moderată, dar de lungă durată determină o a patra fază a sindromului general de adaptare: faza canceroasă.

Sindromul general de adaptare

Hans Selye a demonstrat, în cercetări pe animale, existența unei *reacții stereotipe* din partea oricărui organism supus acțiunii factorilor perturbatori, de stres, din mediul extern. Prin stres se înțelege ceva mai mult decât iritarea nervoasă, discomfortul psihic etc., noțiunea

aplicându-se atât agenților infecțioși, extractelor tisulare injectate animalelor, toxicilor, tratamentelor cu hormoni, agenților fizici cei mai diverși, condițiilor anormale de viață ce se referă îndeosebi la regnul animal, cât și durerii sufletești, muncii intelectuale și fizice intense, grijilor, necazurilor, dorințelor neîmplinite ș.a. ce caracterizează ființa umană.

Stresorul (în cazul nostru *toxicul*, oricare ar fi acesta) provoacă, într-o primă fază, o reacție de alarmă (R.A.) în care organismul își mobilizează forțele pentru apărare. Dacă agentul stresor continuă să acționeze, se produce starea de adaptare sau de rezistență (S.R.), deosebită de faza inițială. Astfel, dacă în cursul reacției de alarmă pH-ul și vâscozitatea sângelui cresc, iar rezistența orgasnismului la agresiuni descrește, declanșându-se procese

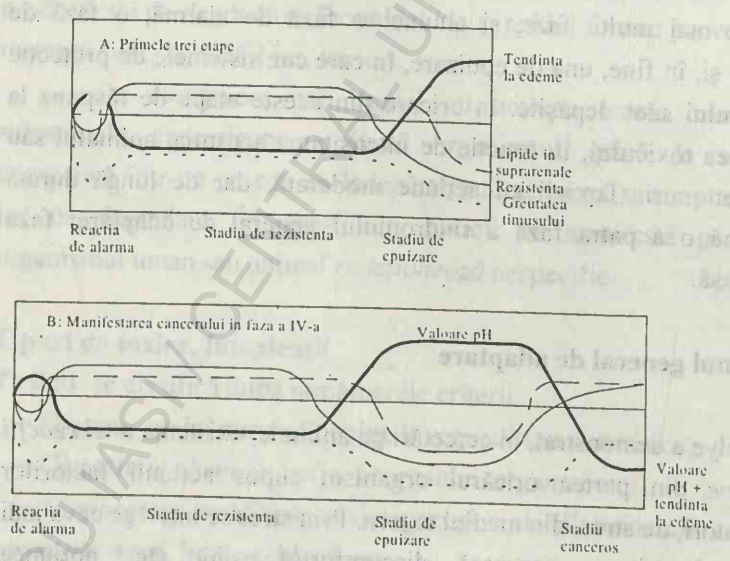


Fig. 1. Reactiile organismelor la stresul nespecific (inclusiv toxic)

catabolice, în stadiul de rezistență sângele se diluează iarăşi, procesele anabolice din țesuturi se accentuează, iar corpul dobândeşte încetul cu încetul greutatea inițială. Prin expunerea animalului sau a omului mai mult timp acțiunii unui agent nociv, adaptarea dispare din nou. Se ajunge în stadiul de epuizare (S.E.) în care simptomele sunt similare celor din cursul reacției de alarmă. În acest stadiu, rezistența organismului scade din nou sub nivelul mediu. Dacă în primele două faze stresul are un efect binefăcător, de adaptare, în ultima fază acesta manifestă un rol negativ (disstress).

Se poate spune astfel că adaptarea organismului la mediu se poate realiza în anumite limite, în funcție de durata şi intensitatea factorilor agresivi din mediul extern pe de o parte, şi de capacitatea de adaptare a organismului în cauză, pe de altă parte. Depăşirea capacității de adaptare a organismului se identifică cu starea de boală în care funcția de homeostazie a organismului şi-a atins limitele. În mod nedeclarat, H. Selye a studiat de fapt funcția de homeostazie şi, mai ales fazele de depăşire a capacității cibernetice de reglaj a sistemelor homeostazice din organismul viu. Cibernetica studiază mecanismele de realizare a echilibrului, a stării normale de sănătate, în timp ce dezechilibrele, stările de boală nu au fost încă abordate încă corespunzător din punct de vedere cibernetic.

Teoria lui H. Selye poate fi îmbogățită cu încă o fază care corespunde unei reveniri a pH-ului la valori mai mici, care se aseamănă oarecum cu faza de rezistență, dar de care se deosebeşte totuşi calitativ. În această fază, în organismul bolnav apar tumori maligne producătoare de acid lactic, iar sângele devine mult mai acid. Tumorile apar în mod firesc într-un organism dezechilibrat, celulele maligne nefiind diferite de cele normale; ele sunt celule obişnuite care,

în condițiile unui dezechilibru profund în care se manifestă o lipsă acută de oxigen la nivelul lor, sunt silite să treacă la fermentație și, consecutiv, la o multiplicare mai energică decât este necesar țesuturilor în care se găsesc aceste celule.

Intoxicația este un răspuns al organismului față de agresiunea toxică și depinde, în primul rând, de o proprietate caracteristică a substanței – *toxicitatea*.

În raport cu *originea* factorilor care determină intoxicațiile, acestea se clasifică în:

Intoxicații endogene, provocate de substanțe nocive eliberate în diferite stări patologice de către microorganisme, paraziți etc.; ele interesează patologia medicală. Se mai pot aminti aici produsele de fermentație din intestinul gros, produsele de degradare ale alimentelor și care sunt în mod normal detoxicate la nivelul ficatului.

Intoxicații exogene, provocate de toxicii pătrunși în organism pe diferite căi; acestea fac obiectul toxicologiei.

În cadrul intoxicațiilor exogene se disting:

— *Intoxicațiile intenționate* (voluntare): crime, sinucideri, toxicomanii;

— *Intoxicațiile accidentale*: accidentele propriu-zise, medicamentoase, profesionale, alimentare.

Crimele prin otrăvire, în continuă scădere, utilizează pesticide organofosforice, digitalice, taliu etc.

Sinuciderile prin otrăvire, în număr din ce în ce mai mare, se realizează prin medicamente (opiacee, psihotrope), apoi prin pesticide, oxid de carbon, gaze naturale, alcaloizi, sodă caustică etc.

Toxicomania (gr. *toxicon* = otravă + *mania* = nebunie) este starea de intoxicație, periodică sau cronică, determinată de consumarea

repetată a unui drog, natural sau sintetic. Caracteristicile sale sunt dorința de neînvins sau necesitatea de a continua consumarea drogului și de a-l procura cu orice preț; tendința de a mări progresiv dozele, dependența de ordin psihic și, în general, dependența fizică față de efectele drogului, cu apariția sindromului de abstinență la suprimarea lui, efecte nocive asupra individului, familiei și societății.

Doparea nu este o intoxicație propriu-zisă, ci reprezintă întrebuințarea mijloacelor și substanțelor naturale sau sintetice (în special psihoanaleptice) capabile să mărească performanțele, în vederea unei competiții fizice sau intelectuale. În mod obișnuit, senzația de oboseală după un efort prelungit obligă subiectul să-și întrerupă activitatea. Substanțele dopante înlătură în mod artificial senzația de oboseală și, implicit, elimină semnalul de alarmă indicând nevoia de odihnă. Oboseala este însă numai mascată, necesitând administrarea unei noi doze de substanță dopantă. Doparea aduce prejudicii eticii sportive, precum și integrității fizice și psihice a sportivilor.

Intoxicațiile accidentale propriu-zise se datoresc neatenției, neștiinței sau imprudenței și sunt legate de păstrarea și folosirea improprie a pesticidelor, medicamentelor, substanțelor chimice de uz casnic (sodă caustică, detergenți, produse petroliere etc.), de defecțiuni de tiraj ale sobelor (gaze naturale, cărbune), de gazele de eșapament ale automobilelor (în garaje).

Intoxicațiile medicamentoase au loc prin:

— *Eroarea medicului;*

— *Eroarea farmacistului;*

— *Eroarea bolnavului* prin supradozare, automedicație, polipragmazie, confuzie de medicament sau de cale de administrare etc.

— *Caracteristici ale bolnavului*: hipersensibilitate, deficiențe în detoxicare sau eliminare.

— *Reacții adverse* ale medicamentului.

Intoxicațiile profesionale produse de compușii unor metale și nemetale, pesticide, solvenți organici, cancerigeni etc.

Intoxicațiile alimentare se produc prin ingerarea – din ignoranță, imprudență, confuzie – a ciupercilor otrăvitoare, plantelor cianogenetice, cerealelor parazitate sau toxice, peștilor otrăvitori, produselor alterate, a contaminanților ca metale toxice, pesticide, detergenți, îngrășăminte azotate, substanțe cancerigene, substanțe din ambalaje, aditivilor alimentari etc

În funcție de *timpul instalării intoxicației* se cunosc:

- *Intoxicația acută*, toxicul fiind absorbit în doză relativ mare și unică sau în doze mai mici și repetate la intervale scurte, iar manifestările toxice apar pe neașteptate, sunt violente și pot fi urmate de moarte. După timpul de apariție și violența manifestărilor toxice, se disting: intoxicația supraacută, acută și subacută;

- *Intoxicația cronică* numită și "intoxicația pe termen lung" reprezintă totalitatea efectelor toxice produse prin administrarea repetată a unui toxic în aceeași doză, pe o perioadă corespunzătoare, de obicei, la cea mai mare parte din viața speciilor care trăiesc puțin sau la viața lor întreagă sau, în cazul în care se urmăresc efecte mutagene, teratogene sau cancerigene, la mai multe generații. Leziunile biochimice și morfofuncționale apar lent, dar continuu.

Intoxicația pe termen lung prin absorbție repetată de doze mici are loc în cazul toxicilor cumulativi (metanol, digitalice, metale grele, fluor, derivați de arsen etc.) prin cumularea dozelor sau prin cumularea efectelor, în cazul substanțelor cancerigene.

Intoxicația pe termen lung poate fi cauzată de o doză unică (ex. Paraquat).

Intoxicația acută reprezintă totalitatea efectelor toxice produse prin administrarea unui toxic într-o singură doză, putând provoca moartea a 50% din animalele din lot în 24–48 ore (sau până la 15 zile pentru toxicii cu efect întârziat).

Intoxicația subacută se exprimă prin totalitatea efectelor toxice produse prin administrarea repetată a unui toxic în aceeași doză, pe o perioadă egală cu 1/10 din durata medie de viață a speciei.

Doze toxice. Doze letale. Concentrații maxime admise

Doza reprezintă cantitatea din substanță care, introdusă în organism, provoacă un efect terapeutic determinat. La medicamente se disting doze terapeutice, toxice și letale. Modul de exprimare a dozei variază: doză/kg masă corporală; doză/masă corporală globală; doză/unitate de suprafață corporală; concentrație molară; unitate biologică etc. Pentru substanțele care au pătruns în organism pe cale orală se face distincție între doza ingerată și doza absorbită.

Doza toxică se referă la cantitatea de substanță capabilă să determine efecte toxice.

Doza letală (DL) exprimă toxicitatea acută a substanțelor care pătrund oral sau parenteral. Se exprimă în mg/kg corp și se stabilește experimental pe loturi de animale. DL este urmat de un indice – de la 1 la 100 – exprimând procentul de letalitate într-un timp dat. DL_5 (DLM) este doza letală minimă, DL_{50} (DML), doza medie letală, DL_{75} este doza fatală, iar DL_{100}, doza maximă letală sau doza letală absolută.

DL_o, doza maximă tolerată (când se produc efecte toxice, dar nu letale) nu este o doză letală.

În mod curent, pentru exprimarea toxicității acute a unei substanțe se folosește categoria DL_{50} (mg/kg corp), deoarece la această doză diferențele de reactivitate individuală sunt mai reduse. În raport cu DL_{50} se clasifică și se compară substanțele toxice (tab. 1).

Aprecierea toxicității acute pe bază de DL_{50} are dezavantajul că nu ține seama de masa moleculară, deoarece trebuie să se ia în considerare numărul de molecule implicate în mecanismele fiziopatologice. S-a introdus, de aceea, noțiunea de *potențial de toxicitate*, pT = log [T]. Valoarea T se calculează după valoarea DL_{50} i.p. la șoareci și reprezintă concentrația molară toxică a substanței, exprimată în moli/kg.

Concentrația letală în atmosferă (CL) exprimă toxicitatea acută a substanțelor care pătrund pe cale respiratorie și are aceeași semnificație ca și DL. Exprimarea sa se face astfel:

– masa/volum (g/v);

– volum/volum (v/v), ca procente de volum (% vol.), părți/milion (ppm), părți pe bilion (ppb; 1ppm=1000ppb).

Concentrațiile maxime admise (CMA) sunt caracteristice fiecărei substanțe din mediul industrial sau comunal, pentru a evita apariția manifestărilor toxice.

În raport cu *natura efectului toxic*, substanțele se împart în:

- substanțe ale căror efecte principale se traduc prin fenomene de iritație, sensibilizare sau intoxicație acută, apărute imediat sau după o fază de latență, în urma unei expuneri de scurtă durată la concentrații curente (oxizi de azot, formaldehidă, halogeni, mercaptani etc.). În

acest caz CMA sunt denumite *valori plafon*, care nu trebuie depăşite nici chiar timp de 10-15 minute;

Tabelul 1

Scara toxicităţii (după Hodge şi Steaner)

Grupa toxicităţii	Gradul toxicităţii	Calea de administrare		Substanţe
		DL_{50} cutanat iepuri, mg/kg	Doza letală probabilă la om (g)	
1	Extrem de toxic	<5	<0,065	Alcaloizi
2	Foarte toxic	5-43	4	Organofosforice, organomercurice, As_2O_3, DNOC
3	Moderat toxic	44-340	31	Metale grele
4	Slab toxic	350-2810	570	Aditivi alimentari, Fe, Ni
5	Practic netoxice	2820-22590	1100	Arome alimentare, NaCl, acizi organici
6	Relativ fără toxicitate	>22600	>1100	Substanţe alimentare

- substanţe ale căror efecte principale se datoresc cumulării lor, în urma expunerii repetate la concentraţii curente (metale grele, solvenţi organici etc.). În acest caz, trebuie considerate drept CMA valorile medii integrate în raport cu timpul, corespunzând noţiunii de *praguri* care nu pot fi depăşite. Ca urmare, aceste concentraţii pot fi

depăşite în timp şi spaţiu, însă este obligatoriu ca, însumate, să se compenseze şi astfel să nu depăşească CMA. De pildă, pentru plumb, expunerea timp de o oră la concentraţii de opt ori mai mari decât concentraţia medie admisă nu prezintă risc de intoxicaţie dacă în celelalte şapte ore de muncă plumbul este absent; dimpotrivă, pentru solvenţii liposolubili cu acţiune narcotică (dicloretilen, CS_2 etc.), valoarea medie admisă nu poate fi decât foarte puţin depăşită, pe o perioadă extrem de scurtă.

Pentru amestecul de toxici există două modalităţi de exprimare a CMA, în raport cu modul de dozare:

- dacă toxicii se dozează global, CMA se exprimă în toxicul cel mai agresiv. De exemplu, la amestecul de HCl, H_2SO_4 şi HNO_3, rezultatul se exprimă în mg H_2SO_4/m^3 de aer (CMA = 1,5 mg/m^3) faţă de ceilalţi doi (CMA = 10 mg/m^3).

- dacă toxicii se dozează individual, CMA se consideră global depăşită chiar atunci când concentraţiile individuale (C_1, C_2, C_3...) sunt mai mici decât CMA respective (CMA_1, CMA_2, CMA_3...), însă suma rapoartelor este egală sau mai mare decât unitatea:

$$C_1/CMA_1 + C_2/CMA_2 + ...+ C_n/CMA_n \geq 1$$

De exemplu, la un amestec de acetonă, alcool izopropilic, cloroform şi alcool amilic, CMA globală este depăşită de 1,5 ori, deşi concentraţiile fiecărui toxic în parte sunt inferioare CMA respective:

$300/1500 + 240/600 + 80/200 + 125/250 = 1,5 > 1$

Când suma rapoartelor este inferioară unităţii, nu există efect aditiv.

Se consideră că au efect sinergic de tip aditiv substanţele toxice care au ca ţintă a agresivităţii lor acelaşi organ sau sistem al organismului ori care au acelaşi mecanism de acţiune. În aceste locuri

de muncă aprecierea riscului, respectiv a nivelului noxelor în aer în raport cu concentrațiile admisibile, se va face aplicând următoarea formulă:

$$C_1/CMA_1 + C_2/CMA_2 + \ldots + C_n/CMA_n < 1$$

(C_1, C_2, C_n = concentrațiile determinate în aer pentru fiecare noxă)

(CMA_1, CMA_2, CMA_n = concentrațiile maxime admise pentru noxele respective).

- în cazul medicamentelor se determină *indicele terapeutic* (IT) sau *factorul relativ de securitate*, prin raportarea *dozei letale* (DL_{50}) la *doza medie eficace* (DE_{50}) (cantitatea de substanță capabilă să determine efect terapeutic la 50% din subiecții folosiți în experiment). Dacă IT $\geq$ 10, utilizarea substanței în terapeutică nu prezintă pericol la doze uzuale; pentru IT < 10 securitatea tratamentului este scăzută.

Ramurile toxicologiei

Toxicologia chimico-legală (judiciară) are ca obiect de activitate punerea în evidență a toxicilor şi metaboliților lor în organe, lichide biologice, corpuri delicte. Are rolul de a dovedi crimele prin otrăvire, stabilirea sinuciderilor şi, mai recent, urmăreşte activitatea laboratoarelor clandestine de sinteză a unor droguri.

Toxicologia clinică urmăreşte asigurarea diagnosticului corect şi a tratamentului eficient în intoxicațiile acute, ca şi măsurile de prim ajutor în caz de accidente, sinucideri etc.

Toxicologia medicamentelor are ca sarcini verificarea preclinică a securității noilor medicamente în condiții de supradozare ca și verificarea, prin experiment pe animal, a reacțiilor adverse depistate la om, pentru medicamentele deja în uz.

Toxicologia metabolică (xenologia) studiază procesele fiziologice și biochimice de transformare a xenobioticelor (substanțe străine organismului) înainte de apariția leziunilor. Prin stabilirea etapelor și sediilor de metabolizare, toxicologia metabolică permite prevenirea intoxicațiilor și tratamentul lor eficient, mărind astfel aportul toxicologiei la medicină.

Toxicologia industrială studiază efectul nociv al toxicilor din mediul industrial, stabilește concentrațiile maxime admise și măsurile de profilaxie a intoxicațiilor. Sarcina actuală a toxicologiei industriale de a urmări intoxicațiile profesionale cunoscute este completată cu studiul produșilor noi cu potențial toxic, depistarea zonelor cu încărcătură toxică și stabilirea metodelor eficiente de detecție și profilaxie.

Toxicologia poluanților atmosferici are în vedere efectul nociv al acestor poluanți, le stabilește limitele de toleranță și măsurile de combatere.

Ecotoxicologia studiază efectele nocive ale poluanților chimici asupra ecosistemelor vegetale și animale, terestre și acvatice. Totodată, studiază trecerea toxicilor de-a lungul lanțurilor alimentare cu posibilitatea de acumulare la anumite nivele ale acestora, ceea ce prezintă pericol pentru om. Cazul cel mai cunoscut este intoxicarea în masă cu metilmercur provenit din compușii cu mercur existenți în apele uzate industriale din Japonia, Statele Unite, Suedia, Canada. De pe râul Siret recent au fost consumați pești otrăviți cu

acetoncianhidrină, substanță care, în corpul copiilor, de pildă, a eliberat acid cianhidric toxic.

Toxicologia alimentară studiază modalitățile de introducere în organism a toxicilor prin alimente și apă, precum și posibilitatea de prevenire a intoxicațiilor pe aceste căi. În afara produselor toxice "per se" și de contaminanți toxicologia alimentară are în vedere și intoxicațiile cu aditivi alimentari și, deci, prevenirea lor printr-o corectă autorizare a acestora.

Toxicologia pesticidelor studiază riscul toxic al diferitelor pesticide și măsurile de profilaxie în cursul utilizării lor în agricultură și cercetează reziduurile de pesticide în alimentele vegetale și animale.

Toxicologia cosmeticelor și a produselor menajere studiază efectele secundare ale componentelor cosmetice și stabilește măsurile de protecție a populației împotriva produselor chimice de uz casnic.

Toxicologia de război studiază obținerea și acțiunea substanțelor toxice de luptă și a antidoturilor acestora, precum și metodologia de detectare.

2. ETAPELE INTOXICAȚIEI

Toxicocinetica

Intoxicația comportă trei faze: faza de expunere, faza toxicocinetică și faza toxicodinamică. După pătrunderea toxicului în mediul intern au loc următoarele procese:

-Acțiunea organismului asupra toxicului, corespunzând *fazei toxicocinetice* și care cuprinde absorbția, distribuția, depozitarea (eventual acumularea), biotransformarea, eliminarea;

-Acțiunea toxicului asupra organismului, corespunzând *fazei toxicodinamice* şi cuprinzând ansamblul fenomenelor care au loc în organism la diferite nivele, conducând, în final, la efectul toxic (fig.2).

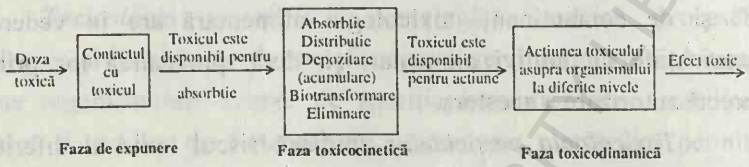


Fig. 2. Cele trei faze ale actiunii toxicilor (după Cotrău, 1993)

Pătrunderea şi absorbția toxicilor în corp

Pătrunderea se poate realiza pe cale digestivă, respiratorie, transcutanată, transmucoasă (oculară, vaginală etc.), transplacentară, parenterală.

Absorbția reprezintă trecerea toxicului din mediul extern în mediul intern (sânge şi limfă circulantă). Pentru a trece în mediul intern, toxicul trebuie să traverseze una sau mai multe membrane: mucoasele tractului gastrointestinal, mucoasele căilor respiratorii, straturile superficiale ale tegumentelor etc. Traversarea membranelor este condiționată de: natura chimică şi organizarea moleculelor constitutive ale membranei; proprietățile fizico-chimice ale toxicului; structura fizico-chimică a mediului de o parte şi de cealaltă a membranei.

Traversarea membranei se realizează în principal prin:

— *Transport pasiv* sau *difuziune simplă,* constând din trecerea toxicului, fără consum de energie, dintr-un compartiment cu concentrație mai mare spre un compartiment cu concentrație mai mică.

Viteza de difuziune este cu atât mai mare cu cât toxicul are masă moleculară mai mică şi liposolubilitate mai mare. Difuziunea este caracteristică pentru medicamente şi toxici gazoşi şi volatili anorganici cu masă moleculară mică, toxici organici volatili, toxici organici acizi, alcaloizi, etc.

— *Transportul activ,* constând din trecerea toxicului, cu consum de energie, dintr-un compartiment cu concentraţia mai mică spre unul cu o concentraţie mai mare. Este caracteristic ionilor minerali.

Absorbţia pe cale digestivă are loc preponderent în intestinul subţire, datorită suprafeţei mari şi vascularizării intense. În gură şi esofag contactul toxicului cu mucoasele este scurt, încât absorbţia este redusă. Totuşi, toxicii foarte hidrosolubili (nicotină, KCN) se absorb rapid prin mucoasa bucală, putând genera intoxicaţii mortale. Substanţele corozive şi caustice nu se absorb în esofag, însă îi corodează peretele. În stomac se absorb toxicii foarte hidrosolubili, iar cei iritanţi pot determina spasm piloric (cu reţinerea toxicului în stomac) sau vărsături (cu eliminarea lui). Absorbţia este diminuată de prezenţa alimentelor în stomac. În colon toxicul ajunge în cantităţi foarte reduse, mai ales în caz de accelerare a tranzitului intestinal. Factorii care influenţează absorbţia digestivă depind de toxic (lipo- sau hidrosolubilitate, grad de disociere, stabilitate chimică în tubul digestiv, mărimea moleculelor etc.) şi de organism (motilitatea intestinală, debitul evacuării gastrice, interacţiuni cu alimente sau cu alte xenobiotice).

Absorbţia pe cale respiratorie este favorizată de suprafaţa mare a alveolelor şi de structura acestora care permite trecerea rapidă în circulaţie a gazelor, vaporilor şi aerosolilor toxici.

Absorbția transcutanată se întâlnește în cazul toxicilor liposolubili, al mercurului și taliului, al gazelor și vaporilor și chiar al unor toxici hidrosolubili când tegumentele nu sunt intacte. Pătrunderea transcutanată este favorizată de masaj, umiditate, temperatură crescută.

Absorbția transplacentară, cu implicații grave pentru dezvoltarea fetusului are loc în cazul unor medicamente și al toxicilor volatili, gazoși sau al metalelor grele.

Distribuția, depozitarea și acumularea

După pătrunderea în mediul intern, toxicii sunt vehiculați de sânge și limfa circulantă spre lichidul interstițial și apoi spre celule. În timpul transportului, o fracțiune din toxic se leagă de proteinele plasmatice, în special de albumine ("vehicule plasmatice"), formând complecși inactivi, iar cealaltă fracțiune rămâne liberă; numai aceasta poate traversa membranele și deci este singura activă. Între ambele fracțiuni se stabilește un echilibru dinamic. Cantitatea de toxic legată depinde de concentrația sa sanguină, de afinitatea pentru situsurile de legare și de capacitatea proteinelor plasmatice de a le fixa (această capacitate este limitată). În general, substanțele liposolubile și slab acide sunt mai puternic legate decât cele neutre. Substanțele cu capacitate mai mare de legare le deplasează pe cele cu capacitate redusă (competiție de transport).

Din lichidul interstițial, toxicii sunt distribuiți, depozitați și/sau acumulați, înainte de a fi metabolizați. Există și toxici care se metabolizează în tubul digestiv, sânge etc.

Distribuția reprezintă transferul toxicilor din sânge în țesuturi și organe. Unii toxici (de exemplu, etanolul) se distribuie uniform în

toate țesuturile. Majoritatea însă se distribuie electiv în anumite țesuturi, în raport cu permeabilitatea membranelor celulare și cu proprietățile fizico-chimice ale toxicului. În general, toxicii liposolubili străbat ușor membranele și se distribuie în țesuturi (organe) lipoide și bine vascularizate (creier, măduvă osoasă). Toxicii liposolubili cu caracter bazic se distribuie în plămâni, rinichi, suprarenale. Toxicii liposolubili cu caracter slab acid și cei excretabili prin bilă se distribuie în ficat. Toxicii hidrosolubili cu caracter bazic se distribuie în ficat, rinichi, suprarenale.

O fracțiune din toxic întâlnește receptorii unde își exercită acțiunea toxică, iar cealaltă fracțiune se poate depozita provizoriu sau acumula în diferite țesuturi.

Depozitarea (localizarea) reprezintă procesul de fixare electivă a toxicului în diferite țesuturi sau organe. Intensitatea și modul de depozitare depind în principal de vascularizarea țesutului și de afinitatea chimică între toxic și constituenții acestuia. Astfel, Pb^{2+}, Ba^{2+}, F^{-} se depozitează în țesutul osos, As^{3+}, Se^{2-}, în fanere, Ag, în piele etc.

Acumularea în țesuturi se realizează prin pătrunderea repetată sau continuă în organism de doze subtoxice de xenobiotice, de obicei rezistente la metabolizare și cu grad redus de eliminare.

Biotransformarea (metabolizarea) toxicilor

Metabolizarea presupune conversia enzimatică a toxicilor în metaboliți mai polari , mai ușor excretabili și, de regulă, mai puțin toxici.

Organismele acvatice nu posedă sisteme metabolizante pentru xenobiotice, deoarece ele excretă compuşii liposolubili direct în apă prin toată suprafaţa corporală. La organismele terestre însă, biotransformarea este indispensabilă, deoarece substanţele liposolubile sunt reabsorbite la nivelul tubular renal şi, de aceea, fără intervenţia metabolizării, eliminarea lor ar fi de ordinul zilelor şi chiar anilor (pentru eliminarea etanolului ar fi necesare 24 de zile).

Organismul animal are posibilitatea de a metaboliza aproape toate structurile chimice cunoscute. Compuşii exogeni suferă metabolizare, cu excepţia compuşilor puternic polari (acizii şi bazele tari, minerali şi organici) şi a unora nepolari (eter etilic, dieldrin etc.).

Metabolizarea se datoreşte funcţiunii vitale a organismului de a se apăra de compuşii străini lui, care pătrund separat sau odată cu substanţele nutritive şi are loc în două faze:

În prima fază, un compus, activ sau inactiv biologic, este transformat prin reacţii de oxidare, reducere sau hidroliză, într-un alt compus activ sau inactiv;

În faza a doua, compusul iniţial împreună cu produsul său de transformare trec, prin reacţii de conjugare, într-un compus inactiv biologic. Astfel, benzenul trece, în prima fază, prin oxidare directă sau prin intermediul epoxidării, în fenol, difenoli şi trifenol, iar aceştia suferă, în faza a doua, o conjugare, în principal cu acidul glucuronic şi cu ionul sulfat. Unele produse se metabolizează complet în prima fază (etanolul), în timp ce altele trec direct în faza a doua (fenolul).

Prin metabolizare, în general, polaritatea compusului creşte. Compusul iniţial, de obicei liposolubil, devine polar în faza I şi mai polar în faza a II-a, când este puternic acid (majoritatea metaboliţilor) sau alcalin (ex. piridina). Fiind polari, aceşti ultimi metaboliţi străbat

mai greu barierele membranare lipoidice, iar reabsorbția tubulară este redusă. Aceasta crează impresia că biotransformarea are rolul de a mări polaritatea şi, indirect, de a reduce toxicitatea xenobioticelor.

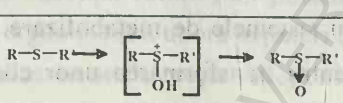
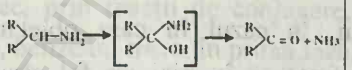
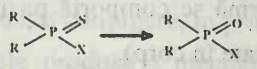
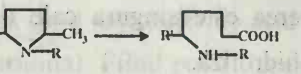
Eterul etilic şi acidul ftalic sunt eliminați nemodificați, iar unele substanțe nepolare, cum ar fi HCH, insecticidele clorurate nu sunt uşor metabolizate şi nici excretate fiind depozitate în țesuturile grase din organism.

Faptul că un singur toxic poate fi metabolizat la un număr imens de produşi sugerează că organismul nu-l recunoaşte şi ca atare acesta interferă doar cu sistemele de metabolizare pe care corpul le utilizează de regulă pentru transformarea unor compuşi exogeni în compuşii proprii. Cu substanțele pe care corpul le recunoaşte, de exemplu proteinele, aminoacizii, grăsimile etc. lucrurile stau cu totul altfel: căile metabolice sunt precise şi transformarea lor se petrece de fiecare dată la fel. Exogenul perturbă buna funcționare a organismului sau doar a unor țesuturi şi organe şi, prin aceasta, intră în reacție chimică sau de altă natură (fiziologică, mecanică etc.) cu componentele corpului. În cazul în care obiectul sau compusul introdus în corp nu afectează în nici un fel structura şi funcțiile organismului, acesta din urmă se comportă pasiv (proteze din argint sau material plastic implantate în corp).

Reacțiile din faza I constau din introducerea în moleculă a grupelor reactive cu polaritate crescută: -OH, $-NH_2$, -COOH, -SH. Cea mai frecventă dintre reacțiile acestei faze este oxidarea, însă pentru unele xenobiotice reducerea este singura cale de metabolizare, iar altele se degradează prin hidroliză.

Tabelul 2

Reacții de oxidare

Reacția	Formula generală	Exemple
Hidroxilarea catenei alifatice	$R\text{-}(CH_2)_n\text{-}CH_3 \rightarrow R\text{-}(CH_2)\text{-}CH_2OH$	Fenazona → 3-hidroxi-fenazona
Hidroxilarea aromatică	$Ar\text{-}X \rightarrow HO\text{-}Ar\text{-}X$	Benzenul → fenoli
N-oxidarea	$R_3N \rightarrow R_3N \rightarrow O$	Trimetilamina → trimetilamino-N-oxid
S-oxidarea		Clorpromazina → S-oxidul clorpromazinei
O-dezalchilarea	$R\text{-}O\text{-}CH_3 \rightarrow R\text{-}O\text{-}CH_2OH \rightarrow R\text{-}OH + HCHO$	Codeina → morfină
N-dezalchilarea	$R\text{-}NH\text{-}CH_3 \rightarrow R\text{-}NH\text{-}CH_2OH \rightarrow R\text{-}NH_2 + HCHO$	Morfina → normorfină
S-dezalchilarea	$R\text{-}S\text{-}CH_3 \rightarrow R\text{-}S\text{-}CH_2OH \rightarrow R\text{-}SH + HCHO$	Metiltiopurina → tiopurină
Dezaminarea oxidativă		Amfetamina → fenilacetonă
Desulfurarea		Parationul → paraoxon
Epoxidarea		Aldrinul → dieldrin
Oxidarea cu deschiderea ciclului		Nicotina → acid γ – (3 piridil) – γ – meti-amnobutiric

Sediul metabolizării poate fi orice țesut sau organ, însă sediul principal este ficatul. Enzimele de metabolizare există însă și în organele și țesuturile care facilitează intrarea și ieșirea din organism (piele, rinichi, plămân, intestin), precum și în alte țesuturi (ochi, plasmă etc.). Sediul metabolizării nu corespunde totdeauna cu sediul principal al acțiunii toxice. Astfel, metanolul se metabolizează în primul rând în ficat, dar efectul toxic se exercită la nivelul retinei, SNC, rinichiului; hidroxilarea 2-naftilaminei are loc în ficat, dar efectul cancerigen apare în vezica urinară; plumbtetraetilul este transformat în plumbtrietil în ficat, dar metabolitul este toxic în special pentru SNC; în cazul dimetilnitrozaminei, sediul metabolizării – ficatul – corespunde cu sediul principal al acțiunii toxice.

Enzimele corpului se pot fi împărți în: enzime *biochimice* (parametabolice) și *xenobiotice* (xenometabolice).

Primele catalizează biotransformarea substanțelor endogene, precum și a substanțelor (metaboliților) care prezintă asemănări structurale cu substanțele endogene, deoarece, odată metabolizate și ajunse la locul de acțiune a enzimelor, acestea nu le mai pot diferenția de substratele lor normale și le metabolizează pe aceeași cale. Exemple: alcooldehidrogenaza, aldehiddehidrogenaza, DOPA-decarboxilaza, monoaminooxidaza, colinesterazele nespecifice plasmatice, guanaza, nucleotidazele, xantinoxidaza degradează deopotrivă substratele naturale și pe cele străine, dar similare ca structură.

Enzimele xenobiotice catalizează biotransformarea majorității xenobioticelor (substanțe chimice industriale, poluanți, medicamente, cancerigeni, aditivi alimentari), care nu prezintă, ca atare sau ca metaboliți, asemănări structurale cu substratele normale. Aceste enzime au sediul în microzomi și realizează în special oxidările. În 1955 Axelrod a pus în evidență un sistem de enzime necesitând

NADPH şi oxigen molecular, oxidazele cu funcţii mixte microzomiale (Microsomal Mixed Function Oxydases) sau OFMM. În microzomi se mai găsesc şi unele reductaze şi hidrolaze.

Există şi substanţe metabolizate atât pe căile normale, cât şi pe cele caracteristice xenobioticelor. De exemplu, etanolul se oxidează în citoplasmă prin intermediul alcooldehidrogenazei (enzimă biochimică) şi în microzomi prin intermediul OFMM.

Enzimele biochimice se mai deosebesc de OFMM prin localizarea, numărul, specificitatea şi activitatea lor.

Enzimele de oxidoreducere biochimică au sediul în special în mitocondrii, enzimele de hidroliză în lizozomi, citoplasmă, plasmă sangvină, iar OFMM se găsesc aproape exclusiv în microzomi.

Enzimele biochimice sunt diversificate şi în cantitate suficientă pentru a satisface metabolizarea substratelor endo- şi exogene; numărul OFMM este mic sau chiar redus la un sistem unic şi universal de oxidaze.

Tabelul 3

Reacţii de reducere

Reacţia	Exemple
Aldehide → alcool primar	$R\text{-}CHO \rightarrow R\text{-}CH_2OH$
Cetone → alcool secundar	$R\text{-}CO\text{-}R' \rightarrow R\text{-}CHOH\text{-}R'$
Saturarea dublei legături	$R\text{-}CH{=}CH\text{-}R' \rightarrow R\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}R'$
Nitroderivat → nitrozoderivat → → hidroxilamină → amină	$R\text{-}NO_2 \rightarrow R\text{-}NO \rightarrow R\text{-}NHOH \rightarrow R\text{-}NH_2$
Azoderivat → hidrazoderivat → amină	$R\text{-}N{=}N\text{-}R' \rightarrow R\text{-}NH\text{-}NH\text{-}R' \rightarrow \rightarrow R\text{-}NH_2 + R'\text{-}NH_2$
Acid hidroxamic → amidă	$R\text{-}CO\text{-}NHOH \rightarrow R\text{-}CO\text{-}NH_2$
Disulfură → sulfhidrol	$R\text{-}S\text{-}S\text{-}R' \rightarrow R\text{-}SH + R'\text{-}SH$
$As^{5+} \rightarrow As^{3+}$	$R\text{-}AsO(OH)_2 \rightarrow R\text{-}As{=}O$

Enzimele OFMM sunt lipsite de specificitate, deoarece metabolizează numeroase substraturi cu structuri diferite, în timp ce enzimele biochimice sunt specifice.

Enzimele biochimice sunt în stare activă, pe când OFMM se activează sub efectul direct al xenobioticelor, putând metaboliza atunci compusul care le-a activat, precum şi alţi compuşi metabolizaţi pe aceeaşi cale. Proprietatea se numeşte inducţie enzimatică.

Principala importanţă practică a fenomenului de inducţie enzimatică rezidă în faptul că că administrarea cronică a unui medicament sau toxic creşte nivelul enzimelor implicate în metabolizarea proprie, iar datorită nespecificităţii marcate, administrarea unui medicament induce o metabolizarea crescută a altor substanţe.

Nicotina măreşte activitatea enzimelor care metabolizează o serie de medicamente şi chiar metabolismul nicotinei este mai intens la fumători decât la nefumători probabil datorită efectului inductor al hidrocarburilor policiclice din ţigară.

Metabolizarea microzomială include oxidări, reduceri şi hidrolize.

Tabelul 4

Reacţii de hidroliză

Reacţia	Formula generală	Exemple
Dezesterificare	R-COO-R → R-COOH + R-OH	Atropina →acid tropic +tropanol
Dezamidare	R-CONH-R → R-COOH + $R-NH_2$	Lidocaina → etilenglicocol + xilină

Oxidarea este realizată de oxidazele cu funcții mixte microzomiale (OFMM), un sistem enzimatic component al membranelor reticulului endoplasmatic neted (REN). Acest sistem este constituit din două hemoproteine (citocromul P_{450} şi citocromul b_5), două flavoproteine (NADPH-citocrom P_{450}-reductaza şi NADH-citocrom b_5-reductaza), o fosfolipidă (fosfatidilcolina). În reacție sunt necesari: oxigenul molecular (O_2), nicotinamidadenin-dinucleotidfosfatul, forma redusă (NADPH) iar uneori şi nicotinamidadenin-dinucleotidul, forma redusă (NADH):

$$R\text{-}H + O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow R\text{-}OH + H_2O$$

Atât disocierea moleculei de oxigen cât şi desfacerea legăturii R-H din substrat reclamă aport crescut de energie de activare, de aceea organismul realizează această oxidare în opt etape (fig. 2):

1. Citocromul P_{450} (notat cu Fe^{3+}) se uneşte cu substratul nepolar, R-H;
2. Fierul heminic Fe^{3+} se reduce la Fe^{2+} prin transferul unui electron de la NADPH, prin intermediul NADPH-citocrom P_{450}-reductazei;
3. Oxigenul molecular formează un complex ternar, $(RH)Fe^{2+}(O_2)$;
4. Un al doilea electron se transferă de la NADPH (prin intermediul NADPH-reductazei) ori de la NADPH sau NADH (prin intermediul citocromului b_5) cu formarea unui anion peroxidic;
5. Anionul peroxidic leagă hidrogenul, cu formare de apă şi de complex $RH(Fe\text{-}O)^{3+}$;
6. Hidrogenul din substratul R-H se transferă pe oxigen, cu formarea radicalului intermediar $(R^o)(Fe\text{-}OH)^{3+}$;

7. Radicalul substratului se recombină cu oxidrilul din complex, cu formarea produsului de hidroxilare, R-OH;
8. Produsul R-OH regenerează forma oxidată a citocromului P-450 şi ciclul se închide.

În prezența unor oxidanți puternici (hidroperoxizi, X-OOH), ciclul se şuntează.

Hidroxilarea toxicilor se face în microzomii hepatici prin labilizarea moleculelor acestora datorită introducerii grupărilor adiționale, mai ales a grupei HO. Citocromul P_{450} constituie locul activității oxigenului, funcționând ca o monooxigenază în oxidarea unor substanțe diverse (hidrocarburi policiclice, medicamente, steroizi, colesterol, acizi graşi, etc.

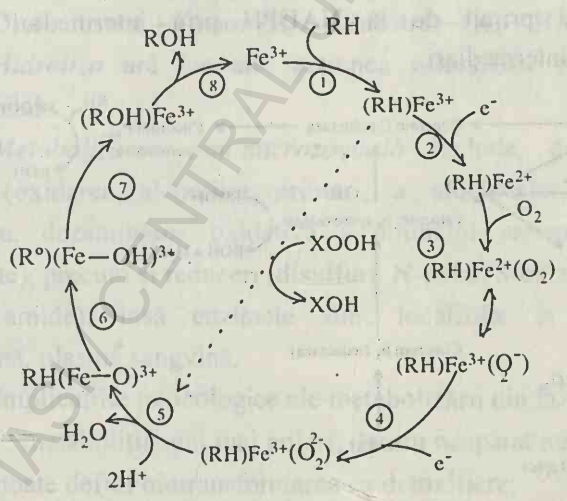


Fig. 3. Etapele activării oxigenului în ciclul citocromului P_{450} în reactiile de hidroxilare microzomială (după Cotrău, 1993)

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Superoxid dismutaza catalizează descompunerea superoxidului printr-o reacție de disproporționare în oxigen și peroxid de hidrogen:

$$2O_2^- + 2H^+ \rightleftharpoons H_2O_2 + O_2$$

Ea inhibă reacția de hidroxilare sau demetilare ale unor toxice, iar adăugarea unui sitem generator de superoxid (xantină + xantin oxidază) stimulează hidroxilarea unor toxice de către sistemul enzimatic microzomial.

Sistemul oxidazic cu funcții multiple este responsabil de procesul de detoxifiere hepatic, care începe prin introducerea unor grupări polare în structura substratului lipofil pentru a-l face mai hidrosolubil. Sistemul enzimatic microzomial cuprinde de asemenea un număr de reacții oxidative ca hidroxilări, O și N-dealchilări, sulfoxidări etc. Reacția principală de hidroxilare a unui substrat AH se datorește contactului direct cu citocromul P_{450} redus datorită unui flux de electroni primit de la NADPH prin intermediul celorlalți transportori intermediari.

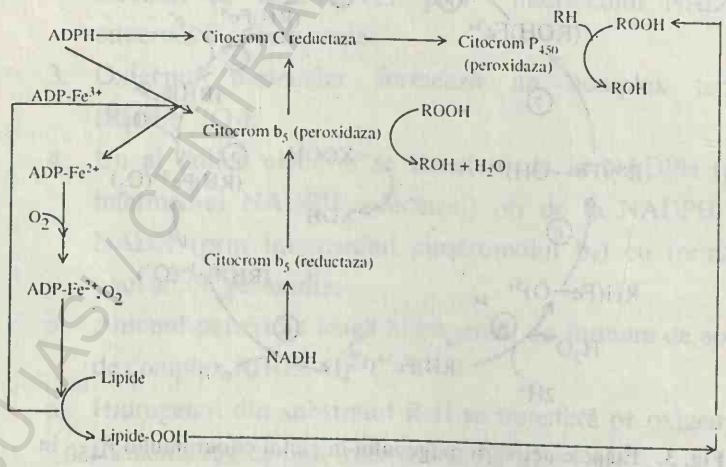


Fig. 4. Schema ipotetică a hidroxilării prin capacitatea peroxidazică a citocromilor P450 si b5

Peroxidarea lipidelor constituie un proces firesc al cărui rol creşte odată cu creşterea concentraţiei toxicilor sau medicamentelor supuse metabolizării. De aceea, în procesul detoxifierii creşte semnificativ concentraţia lipidelor peroxidate.

Reducerea este realizată de reductaze (nitro- şi azo-) NADH- sau NADPH- dependente, microzomiale.

Oxidoreducerile microzomiale se realizează sub influenţa *dioxigenazelor*, care încorporează ambii atomi de oxigen în substrat,

$$O_2 + \text{substrat} \rightarrow \text{Substrat}—O_2$$

a *oxigenazelor*, care reduc O_2, fie la H_2O_2 sau la două molecule de H_2O, fără încorporarea O_2 în substrat:

$$O_2 + 2H^+ (4H^+) + 2e^- \rightarrow H_2O_2 (2H_2O)$$

sau a *monooxidazelor*, care încorporează un atom de oxigen în substrat şi reduc celălalt atom de oxigen la apă:

$$O_2 + \text{substrat} + \text{Donor}—H_2 \rightarrow \text{Substrat}—OH + H_2O + \text{Donor}$$

Hidroliza are loc sub acţiunea esterazelor şi amidazelor microzomiale.

Metabolizarea non-microzomială include, de asemenea, oxidări (oxidarea alcoolilor primari, a aldehidelor alifatice şi aromatice, dezaminarea oxidativă a aminelor aromatice şi aril-substituite), precum şi reduceri (disulfuri, N-oxizi, S-oxizi) şi hidrolize (esteri, amide), însă enzimele sunt localizate în mitocondrii, citoplasmă, plasmă sangvină.

Implicaţiile toxicologice ale metabolizării din faza I:

— metaboliţii sunt mai polari, dar nu neapărat mai puţin toxici şi nu se poate defini biotransformarea ca detoxifiere;

— apariţia metaboliţilor mai toxici explică faptul că unele xenobiotice sunt inactive in vitro, dar active in vivo (Parationul,

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Schradanul, glucozizii cianogenetici, cloralhidratul, fenacetina etc.);

— apariția metaboliților cu activitate diferită de a compusului inițial este caracteristică unor xenobiotice (ex. primidona, trece parțial în fenobarbital cu proprietăți sedative, alături de cele anticonvulsivante);

— activarea enzimelor microzomiale, respectiv inhibarea, sub acțiunea xenobioticelor administrate concomitent sau anterior dă naștere la fenomenul de inducție, respectiv de inhibiție enzimatică.

Reacțiile din faza a II-a reprezintă conjugări:

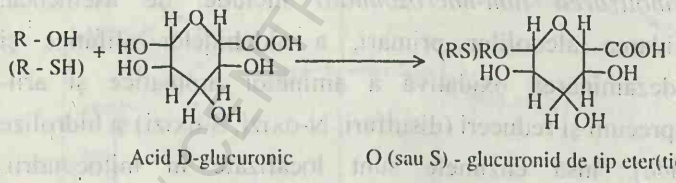
Reacția: glucurono-conjugarea

Compușii inițiali: derivați hidroxilici, tiolici, carboxilici, aminici

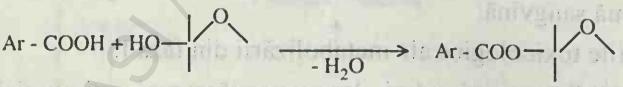
Compușii finali: O-gluconoride de tip eter, S-gluconoride de tip tioeter, O- gluconoride de tip ester

Enzima: gluconoril-transferaza

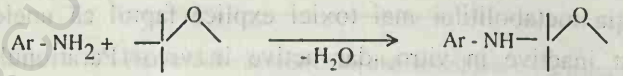
Modul de activare: cu UTP



Acid D-glucuronic — O (sau S) - glucuronid de tip eter(tioeter)



O - glucuronid de tip ester



N - glucuronid

BCU IAȘI / CENTRALA UNIVERSITARĂ LIBRARY

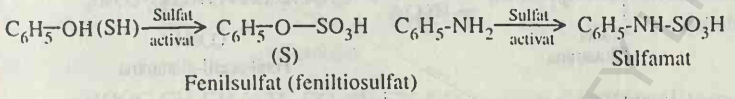
Reacția: sulfo-conjugarea

Compuşii inițiali: derivați hidroxilici, tiolici, aminici

Compuşii finali: esteri sulfurici, tiosulfurici, sulfamați

Enzima: sulfo-transferaza

Modul de activare: cu ATP



$$C_6H_5\text{-}OH(SH) \xrightarrow[\text{activat}]{\text{Sulfat}} \underset{\text{(S)}}{C_6H_5\text{-}O\text{—}SO_3H} \qquad C_6H_5\text{-}NH_2 \xrightarrow[\text{activat}]{\text{Sulfat}} \underset{\text{Sulfamat}}{C_6H_5\text{-}NH\text{-}SO_3H}$$

Fenilsulfat (feniltiosulfat)

Reacția: acetilarea

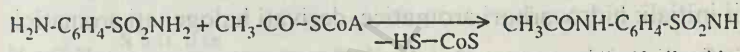
Compuşii inițiali: amine aromatice, sulfonamide, hidrazine, acid p-aminobenzoic

Compuşii finali: derivați N-acetilați

Enzima: N-acetil-transferaza

Modul de activare: prin CoA

$$\underset{\text{Sulfanilamida}}{H_2N\text{-}C_6H_4\text{-}SO_2NH_2} + \underset{\text{Acetil-CoA}}{CH_3\text{-}CO\text{~}SCoA} \xrightarrow[\text{—HS—CoS}]{} \underset{\text{N-4-acetilsulfanilamida}}{CH_3CONH\text{-}C_6H_4\text{-}SO_2NH_2}$$



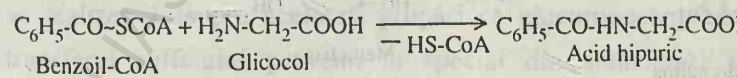
Reacția: glicocol-conjugarea

Compuşii inițiali: derivați carboxilici (COOH fixat direct pe ciclul aromatic sau prin intermediulunei catene laterale

Compuşii finali: derivați ai aril-glicocolului

Enzima: glicocol-N-acilaza

Modul de activare: prin CoA



$$\underset{\text{Benzoil-CoA}}{C_6H_5\text{-}CO\text{~}SCoA} + \underset{\text{Glicocol}}{H_2N\text{-}CH_2\text{-}COOH} \xrightarrow[\text{— HS-CoA}]{} \underset{\text{Acid hipuric}}{C_6H_5\text{-}CO\text{-}HN\text{-}CH_2\text{-}COOH}$$

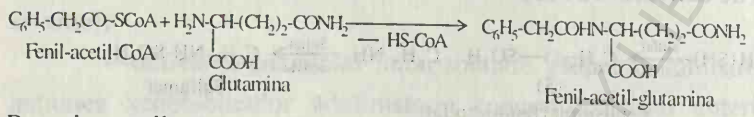
BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Reacția: glutamin-conjugarea

Compușii inițiali: unii acizi aril-acetici

Compușii finali: derivați ai fenil-acetil-glutaminei

Modul de activare: prin CoA



Fenil-acetil-CoA — Glutamina — Fenil-acetil-glutamina

Reacția: metilarea

Compușii inițiali: derivați N-heterociclici, amine aromatice endogene, fenoli, tioli, As, Se, Te

Compușii finali: derivați N, O, S, metilați

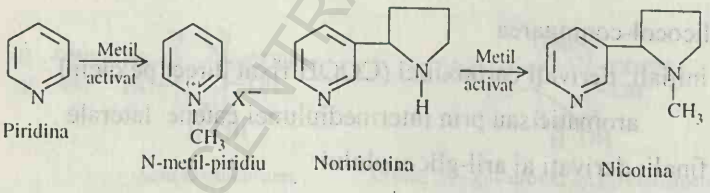
Enzima: metil-transferaza

Modul de activare: prin ATP

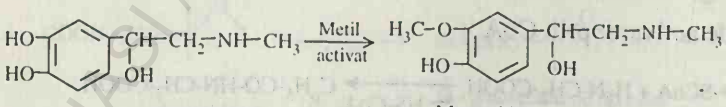
Reacția: mercaptarea (cistein sau glutation-cojugare)

Compușii inițiali: hidrocarburi aromatice, derivați halogenați aromatici

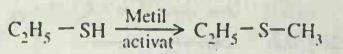
Compușii finali: acizi mercapturici



Piridina — N-metil-piridiu — Nornicotina — Nicotina



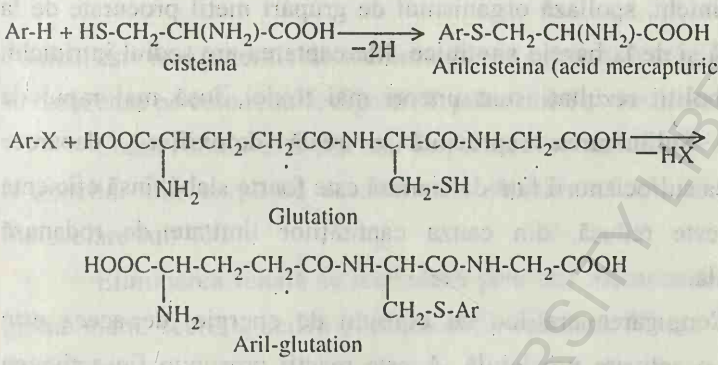
Adrenalina — Metnefrina



Etilmercaptan — Etilmercaptan metilat

BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Enzima: cistein (glutation)-transferaza

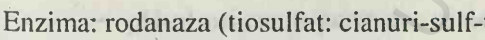


Reacția: sulfurizare

Compușii inițiali: acid cianhidric, cianuri, nitrili

Compușii finali: sulfocianuri (tiocianați)

Enzima: rodanaza (tiosulfat: cianuri-sulf-transferaza)



Una dintre cele mai importante reacții este glucuronoconjugarea, deoarece acidul glucuronic, glucuronil-transferaza și nucleotidul de activare se găsesc în majoritatea țesuturilor (ficat, rinichi, intestin) și, de asemenea, datorită varietății de grupări (-OH, -SH, $-NH_2$) pe care acidul glucuronic poate fi transferat. Glucuronil-transferaza este localizată în microzomi. Sulfoconjugarea se realizează asupra aceloraşi grupări ca glucuronoconjugarea, prin transferul sulfatului provenit în special din aminoacizi sulfurați. Sulftransferaza se găseşte în citoplasmă, îndeosebi în ficat şi intestin. Acetilarea are loc în ficat şi în celulele sistemului reticulo-endotelial.

BCU "IULIU HAȚIEGANU" CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Conjugarea cu glicocolul se realizează în ficat. Metilarea, cu sediul în ficat şi rinichi, spoliază organismul de grupări metil procurate de la metionină şi de la bazele xantinice. Mercaptarea are sediul în rinichi, iar metaboliţii rezultaţi sunt uneori mai toxici, însă mai rapid de eliminat. Sulfurizarea reprezintă o reală detoxifiere, deoarece toxicitatea sulfocianurii faţă de cianură este foarte slabă, însă eficienţa reacţiei este redusă, din cauza cantităţilor limitate de rodanază disponibilă.

Conjugarea are loc cu consum de energie, de aceea este necesară o activare prealabilă. Aceste reacţii presupun fie activarea agentului de conjugare, fie activarea toxicului.

Benzenul, se transformă în prima fază în fenol, toxic, iar acesta, în faza a doua trece în acid fenilglucuronic, mai puţin toxic şi mai hidrosolubil.

Un număr mic de xenobiotice pot lua parte la reacţii de sinteză denumite "sinteze letale" din care rezultă compuşi toxici.

Biotransformarea este influenţată de factori endogeni şi exogeni: specie, rasă, vârstă, sex, stări patologice, starea de nutriţie, bioritmul, factorii de mediu, interacţiunile cu alte xenobiotice sau cu factorii nutritivi.

Biotransformarea reprezintă calea majoră de debarasare a organismului de toxici. Sistemele enzimatice pot fi însă depăşite, având drept consecinţă spolierea organismului în grupări acetil, metil, sulfat, tiol, etc. necesare reacţiilor din faza a II-a; creşterea cerinţei de NADPH implicat în OFMM, cu consecinţe asupra unor metabolisme.

Eliminarea toxicilor din corp

Toxicul este mai puternic dacă eliminarea sa este mai lentă. Eliminarea se realizează pe cale renală, digestivă, pulmonară şi transcutanată.

Calea renală este cea mai importantă modalitate de eliminare a toxicilor din corp. Pe această cale se elimină toxicii cu mase moleculare sub 400.

Eliminarea renală se realizează prin trei mecanisme: filtrarea glomerulară, secreţia activă şi reabsorbţia tubulară. Viteza eliminării depinde de:

— debitul urinar, dependent de parametrii interni şi externi;

— rata de fixare a proteinelor plasmatice (legarea într-un procent mai ridicat a toxicului conduce la eliminarea sa mai lentă);

— pH-ul urinar: o parte din toxicul filtrat glomerular poate fi reabsorbită tubular, în funcţie de caracteristicile fizico-chimice. Compuşii liposolubili se reabsorb până la metabolizare completă în compuşi hidrosolubili, eliminabili renal; electroliţii slabi se elimină în raport cu pH-ul urinei tubulare (pH-ul alcalin favorizează eliminarea compusului acid ionizat, deoarece reabsorbţia tubulară este împiedicată, iar pH-ul acid favorizează eliminarea compusului bazic); electroliţii tari se elimină rapid, indiferent de pH-ul urinar deoarece sunt complet disociaţi.

— inducţia (sau inhibiţia) enzimatică modifică ritmul excreţiei;

— vârsta şi integritatea funcţiei renale: la vârstnici şi taraţi renal eliminarea toxicului este redusă;

— interacțiuni: toxicii care se elimină prin secreția activă tubulară pot intra în competiție pentru mecanismele de transport.

Calea digestivă (sucurile digestive și bila) este caracteristică pentru toxicii cu mase moleculare de 400-500. Rolul ficatului este important în eliminarea toxicilor din organism, dar efectul său este modificat de reabsorbția toxicului de intestin prin circuitul enterohepatic. De aceea, se elimină prin tubul digestiv (fecale) acei toxici care sunt concentrați în bilă, dar nu sunt reabsorbiți din intestin.

Calea pulmonară este caracteristică gazelor și substanțelor volatile care străbat membrana alveolocapilară și, ajungând la alveole sunt evacuate prin expirație.

Alte căi de eliminare: prin tegumente, fanere, glande sudoripare se elimină metale grele; arsen, halogenuri, unele substanțe volatile; prin glanda mamară se elimină o serie de medicamente și toxici.

3. TOXICODINAMIA

Toxicodinamia studiază acțiunea toxicilor asupra organismului. Totalitatea proceselor biochimice și fizico-chimice care au loc în cadrul interacțiunii toxic-organism constituie acțiunea toxicodinamică.

Toxicii provoacă modificări rapide și adesea reversibile care au loc la nivel celular și subcelular, observabile prin microscopie optică și electronică. Modificările patologice din țesuturi sunt precedate de modificări în biochimia lor.

BIBLIOTECA CENTRALĂ UNIVERSITARĂ

Acțiunea toxicilor la nivel de țesut, organ, aparat, sistem

Sistemul nervos poate fi afectat de toxici în toate sectoarele sale: central, periferic, vegetativ, prin acțiune directă (la nivelul centrilor nervoși, al sistemelor neuroefectoare și al sistemelor aferente neuroacceptoare) și indirectă (ca urmare a hipoxiei, hipercapniei, modificărilor hidroelectrolitice și acidobazice, colapsului vascular). Principalele tulburări neurologice și psihice din intoxicațiile acute sunt:

— *Coma toxică* apare în intoxicațiile acute, în special medicamentoase și prezintă variații simptomatice în funcție de toxic;

— *Convulsiile* sunt consecința hiperexcitabilității zonelor motorii din scoarță sau a unor centri nervoși motori și medulari;

— *Tulburările motorii* (pareze, paralizii) și senzitive (neuromialgii, anestezii, parestezii) au diferite substraturi;

— Midriaza, mioza, rigiditatea pupilară pot apărea direct, generate de toxic prin stimulenți vegetativi, ca și prin blocarea sistemelor enzimatice vegetative sau prin stări hipoxice;

— *Delirul*, cu sau fără halucinații, apare în intoxicații acute cu febră sau cu insuficiență renală acută, cu tulburări circulatorii și anemie gravă;

— Cefaleea, insomnia, somnolența, apatia, anxietatea, iritabilitatea sunt tulburări neuropsihice.

Leziunile histopatologice la nivelul sistemului nervos central îmbracă diferite forme, în raport cu specificul toxicului. În intoxicațiile acute și în unele cronice (ex. saturnism) se observă degenerescență mielinică a nervilor periferici.

Sistemul cardiovascular este afectat de toxici, direct sau indirect, prin acțiune asupra principalelor verigi ale circulației: contractibilitatea miocardului, frecvența cardiacă, volumul sangvin circulant, vasomotricitatea.

— Tulburările de contractibilitate survin prin acțiune directă asupra miocardului sau printr-un regim circulator coronarian inadecvat sau ca urmare a hipoxiei;

— Tulburările de ritm apar prin acțiune asupra sistemului nervos periferic, ca și asupra fasciculelor excitoconducătoare ale miocardului;

— Scăderea volumului sangvin circulant are loc, în principal, prin creșterea permeabilității capilare cu extravazare de plasmă în țesuturi, cavități seroase, lumen gastrointestinal;

— Alterările vasomotricității sunt vasodilatația (prin deprimarea SNC) și vasoconstricția.

Tulburări cardiovasculare din intoxicațiile acute: insuficiența circulatorie acută periferică (șocul toxic sau colapsul toxic) și stopul cardiac au efect letal.

Aparatul respirator poate fi afectat pe următoarele căi:

— Inflamația acută a mucoasei tractului respirator care poate conduce la asfixie, prin lipsă de aer;

— Alterarea permeabilității membranei alveolocapilare, urmată, imediat sau tardiv, de edem pulmonar acut toxic;

— Excitarea sau deprimarea centrilor respiratori poate conduce la stop respirator;

— Blocarea hemoglobinei circulante (cazul CO) sau a respirației celulare (cazul CN^-) conduce la asfixie prin incapacitatea de fixare a oxigenului pe hemoglobină, respectiv prin anoxie tisulară;

— Paralizia mușchilor respiratori determină asfixie.

Ficatul poate fi lezat prin acțiune toxică directă asupra hepatocitului sau prin acțiune trofopatică, când se produce carența în unii factori indispensabili hepatocitului.

Toxicii liposolubili afectează predominant hepatocitele, iar toxicii hidrosolubili, celulele tubulorenale.

În funcție de durata și intensitatea expunerii la toxic, precum și cu sensibilitatea individuală, afectarea ficatului se exprimă prin: atrofie galbenă acută (hepatonecroză întinsă, ireversibilă), hepatită acută (hepatonecroză limitată cu regenerare în timp), hepatită subacută sau cronică (hepatonecroză progresivă, cu reparație mezenchimală), ciroză (scleroză întinsă, cu sfârșit letal).

Rinichiul este afectat de acei toxici și/sau metaboliți care se elimină în principal la acest nivel. Lezarea se produce prin mecanism direct sau alergic sau ca o consecință a hipoxiei din starea de șoc:

— Nefropatia acută tubulară toxică se produce prin acțiunea nefrotoxică directă. Porțiunea cea mai sensibilă este tubul contort proximal – unde au loc concentrarea și reabsorbția – afectarea exprimându-se prin procese degenerative de diferite grade. Leziunile nefrotice se însoțesc, când intoxicația este gravă, de leziuni determinate de ischemie (deficit circulator local). Tabloul clinic este de insuficiență renală acută toxică;

— Rinichiul în stare de șoc este consecința acțiunii toxice indirecte, când în cadrul șocului toxic, alături de alte organe și sisteme, este afectat și rinichiul, datorită anoxiei ischemice, cu instalarea oliguriei (anuriei). Dacă ischemia este prelungită, diureza nu este reluată după înlăturarea stării de șoc a intoxicatului și apare sindromul de insuficiență renală acută toxică;

— Nefropatia cronică, profesională sau medicamentoasă, poate fi primar sau secundar cronică când rezultă din evoluția unei nefropatii acute.

Aparatul digestiv este afectat de majoritatea toxicilor introduși pe cale orală. Aceştia acționează fie direct pe diferite structuri, fie indirect, prin intermediul sistemului nervos central sau vegetativ sau al unor reacții imunoalergice. Leziunile organice sau funcționale sunt exprimate prin diferite manifestări.

Sângele şi măduva hematogenă pot fi atacate de toxici care provoacă hemopatii induse prin atacarea măduvei hematogene (hemopatii mielotoxice sau imunopatogene), hemopatii induse prin atacarea elementelor sângelui circulant, hemopatii induse prin combinarea ambelor mecanisme, acțiunea prevalând fie pe măduvă, fie pe elementele sângelui.

Tulburările hidroelectrolitice şi de echilibru acido-bazic pot fi deosebit de grave în intoxicațiile severe şi se realizează prin următoarele mecanisme: vărsături şi diaree; hipersudorație şi hipersecreție glandulară; scăderea (abolirea) funcției renale; întreruperea aportului oral sau aport exagerat parenteral; formarea de exces de acizi prin metabolizarea toxicului; aport de acizi şi baze exogene (intoxicații acute cu acizi şi baze, unde creşte sau scade pH-ul sangvin).

Acțiunea toxică directă este caracteristică unui număr limitat de toxici care determină inflamația sau necroza țesutului cu care vin în contact: tegumentele (substanțe vezicante, acizi şi baze tari), conjunctivele bulbare (substanțe lacrimogene), mucoasele tractului respirator (gaze iritante), mucoasele bucală, esofagiană şi gastrică (substanțe iritante, caustice, corozive etc.).

Acțiunea toxicilor la nivel celular

Membrana celulară reglează pătrunderea şi eliminarea substanțelor spre interior şi spre exterior, menținând constantă compoziția mediului intern. Toxicul poate influența fluxul ionic prin membrană prin micşorarea canalelor ionice, când se produce stabilizarea membranei şi blocarea conducerii nervoase prin întreruperea fluxului ionic (cazul cocainei). Deoarece există canale separate pentru Na^+ şi pentru K^+, unii toxici (tetrodoxina) blochează fluxul de sodiu, alții (clorura de tetraetilamoniu), fluxul de potasiu;

De asemenea, unii toxici (DDT, alcaloizii din veratrum) favorizează lărgirea canalelor ionice, când se produce labilizarea membranei. Totodată, printr-o acțiune anti-ATP-azică (ouabaină) se produce inhibarea pompei cationice.

Nucleul este afectat de toxici prin:

— inhibarea precursorilor acizilor nucleici;

— încorporarea în acizii nucleici;

— legarea covalentă cu acizii nucleici;

— formarea complecşilor reversibili cu AND;

— interferarea cu AND- şi ARN-polimeraza.

Inhibarea precursorilor acizilor nucleici este realizată de antagoniştii acidului folic şi de antimetaboliții bazelor purinice (adenina, guanina, hipoxantina, xantina) sau pirimidinice (uracilul, citozina, timina), care, deşi analogi chimici ai acestor baze, formează compuşi inutilizabili de către celulă. Astfel, 6-tiopurina, analog chimic al hipoxantinei, împiedică intrarea acesteia în celulă, deoarece hipoxantina formează acid inozinic, în timp ce 6-tiopurina sintetizează

acid tioinozinic, respins de celulă. Asemănător reacționează și 5-fluorouracilul, analog chimic al uracilului.

6-Tioguanina, inhibă biosinteza acizilor nucleici, dar se poate încorpora în aceștia în locul bazelor naturale.

Legătura covalentă cu acizii nucleici se referă la substanțele antitumorale și la cancerigeni.

Complecși reversibili cu DNA pot forma LSD și unele antibiotice (antracilina, rubidomicina) care afectează replicarea și transcrierea; legăturile fiind electrostatice, modificarea pH-ului mediului determină desfacerea complecșilor.

Interferența cu DNA- și ARN-polimeraza este cazul sarcomicinei care inhibă DNA-polimeraza, blocându-l grupările –SH, sau al rifamicinei și rifampicinei, care inhibă ARN-polimeraza la microorganisme –nu însă la mamifere – fapt pe care se bazează utilizarea lor clinică.

Mitocondriile sunt sediul lanțului respirator (transportor de electroni) și al cuplării acestui proces cu fosforilarea oxidativă, având ca rezultat sinteza de ATP. Transportul electronilor este de asemenea cuplat cu ciclul Krebs. Acțiunea toxicilor poate avea loc la următoarele nivele:

— *Ciclul Krebs* este blocat de diferiți toxici (inhibitori) la oricare din secvențele sale; astfel, acidul fluoracetic realizează "sinteza letală" unele fenotiazine inhibă dehidrogenazele NAD-dependente, cu oprirea ciclului la nivelele respective;

— *Lanțul respirator* este blocat prin inhibarea flavinnucleotidelor (barbiturice, unele fenotiazine), a citocromilor (CN^-, H_2S, actinomicină), a enzimei Q (dicumarinice) etc.;

— *Sinteza ATP* este micşorată de unele xenobiotice (CCl_4, tetracicline, digitalice); alţi toxici împiedică fosforilarea oxidativă prin acţiune mixtă asupra lanţului respirator şi a sintezei ATP; decuplarea transportului de electroni cu fosforilarea oxidativă este modul de acţiune al dinitrofenolilor;

— Modificarea permeabilităţii membranei mitocondriale are loc prin diferite mecanisme (de pildă, prin interacţiune cu –SH);

— Influenţa sintezei proteinelor mitocondriale are loc prin inhibare (actinomicina D blochează ARN-polimeraza) sau prin activare (hormonul tiroidian stimulează captarea unor aminoacizi).

Reticulul endoplasmatic este format din membrane de separare aranjate într-un sistem de canalicule care ating nucleul şi înconjoară mitocondriile. Unele porţiuni ale reticulului endoplasmatic sunt netede (REN), în timp ce altele poartă granule de ribozomi (reticul endoplasmatic rugos, RER). Reticulul endoplasmatic are rolul de a concentra şi transporta proteinele sintetizate de ribozomi. Prin centrifugare diferenţiată se obţin fragmente de RER bogate în fosfolipide şi în ribozomi, şi de REN, denumite microzomi, în care se găseşte manjoritatea OFMM. Principalele mecanisme de acţiune a toxicilor asupra reticulului endoplasmatic sunt:

— Modificarea structurii reticulului prin scăderea sintezei lipoproteinelor, consecinţă a scăderii sintezei ATP în mitocondrii. Astfel, tetraciclinele determină steatoză hepatică cu vacuolizarea reticulului endoplasmatic şi creşterea cantităţii de membrane netede (REN), concomitent cu scăderea cantităţii de membrane rugoase (RER). Tetraclorura de carbon determină dilatarea RER cu desprinderea ribozomilor şi scăderea sintezei proteice;

— Hipertrofia reticulului prin stimularea activității OFMM ca urmare a inducției enzimatice;

— Inhibiția directă a enzimelor (novobiocina inhibă glucuronil-transferaza hepatică, cu eliberare de bilirubină și apariția hepatitei toxice);

Ribozomii sunt granulele dispuse de-a lungul reticulului endoplasmatic și reprezintă locul de sinteză a proteinelor după modelul dat de ARN-mesager. Sinteza proteică poate fi afectată de unii toxici. Astfel, purotonina, un antitumoral asemănător structural cu porțiunea din ARN de transfer (t-ARN) la care se fixează aminoacizii activați (aminoacil-t-ARN). Puromicina poate forma o legătură peptidică cu un aminoacid anterior legat de lanțul peptidic (prin gruparea $-NH_2$), însă împiedică legarea aminoacidului următor, oprind creșterea lanțului peptidic.

Lizozomii, cu rol în activitatea digestivă a celulei, pot fi afectați de toxici prin următoarele mecanisme:

- Afectarea permeabilității membranelor: lizozomii conțin enzime hidrolitice cu pH optim acid care, în mod obișnuit, sunt separate de substratele lor din citoplasmă prin membrana fosfolipidică a lizozomilor. Dacă permeabilitatea membranară este ușor afectată, se produc dereglări în trecerea apei și a electroliților. În cazul în care alterarea este profundă sau membrana ruptă, enzimele hidrolitice sunt eliberate și atacă constituenții celulari de bază (nucleotide, proteine, lipide, glucide). În final se produce dereglarea organitelor (mitocondrii și reticul endoplasmatic), urmată de citoliză.

Principala cauză a modificării permeabilității membranare este anoxia, iar aceasta este consecința dereglării respirației celulare și a producerii de energie. Modificarea permeabilității membranare este

produsă de hepatotoxici (CCl_4), sulfat de streptomicină, digitalice, DNOC etc.;

— Intervenirea în fagocitoză, de pildă, cu formare de vacuole;

— Modificarea reacțiilor din interiorul lizozomilor, ca în cazul detergenților neionici.

Acțiunea toxicilor la nivel molecular

Efectele toxice pot fi consecința inhibiției enzimatice:

— *Competitivă*, când inhibitorii, fiind analogi chimici ai substratului, intră în competiție cu acesta pentru ocuparea centrilor activi ai enzimei, formând complexul inhibitor-enzimă.;

— Necompetitivă, când inhibitorii nu au structură analogă substratului, deci nu concurează pentru centrii activi enzimatici, iar concentrația substratului nu influențează efectul inhibitorilor. Pot fi reversibili, care induc doar o încetinire a reacției enzimatice, și inhibitori necompetitivi repetitivi ireversibili, care determină inactivarea enzimei.

Un tip aparte de competiție enzimatică este competiția alosterică, cu rol important în reglarea activității enzimatice. Numeroase enzime posedă doi centri capabili să fixeze substanțele: un centru izosteric (activ) care leagă substratul și compușii înrudiți structural, realizând cataliza; un centru alosteric, care leagă compușii diferiți structural de substrat, cu rol de inhibitori sau activatori. Fixarea unui inhibitor — de exemplu citratul din ciclul Krebs pe centrul alosteric al fosfokinazei — determină modificări conformaționale ale enzimei la nivelul centrului activ, scăzându-i afinitatea față de substrat — cu limitarea, în exemplul dat, a glicolizei.

BUCHAREST CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Principalele mecanisme din interacțiunea toxic-enzimă sunt:

— Denaturarea protein-enzimei (apoenzimei), prin acizi și baze tari, fenol, formaldehidă, metale grele;

— Blocarea grupărilor reactivate ale apoenzimei (–SH, –OH, $–NH_2$, –COOH); de exemplu, grupările –SH sunt blocate de agenți oxidanți (fericianură), compuși de arsen, metale grele (Pb, Hg), agenți alchilanți (iodacetat, iodamidă);

— Modificarea conformațională a enzimei: anumiți toxici îngustează, de exemplu, la alcooldehidrogenază, calea de acces a etanolului spre centrul activ;

— Competiția cu gruparea prostetică: CN^- complexează Fe^{3+} din citocromoxidază;

— Competiția cu coenzima: acidul piridin-3-sulfonic și acetil-3-piridina acționează ca antimetaboliți ai nicotinamidei din compoziția coenzimelor NAD și NADP;

— Complexarea metalului activator: fluorul complexează Mg din enolază; sulfura de carbon, disulfiramul, ditiocarbamații complexează Cu din citocromoxidază, aldehiddehidrogenază, monoaminooxidază, tirozinază și Zn din anhidrida carbonică, lactic dehidrogenază, alcooldehidrogenază; chelatanții (ex. sărurile acidului edetic — EDTA) spoliază organismul de unele metale bivalente;

— Competiția cu substratul;

— Sustragerea substratului (H_3AsO_3 reacționează cu gliceraldehida cu formare de acid fosfoarsengliceric, și privează etapa următoare a glicolizei de acidul difosfogliceric, substratul normal).

Sinteza letală: o substanță exogenă netoxică este transformată în organism într-una toxică. Fluoracetatul nu este toxic *in vitro* pentru enzimele ciclului Krebs; *in vivo*, din fluoracetat activ și oxaloacetat se

sintetizează fluorcitrat. Acesta inhibă aconitaza (enzima din etapa citrat-oxaloacetat), blocând ciclul Krebs. Ca urmare a leziunii biochimice la acest nivel, organismul este privat de energie, iar citratul se acumulează în țesuturi, leagă Ca^{2+}, și spoliază organismul de acest element.

Alterarea metabolismului celular. Unii antimetaboliți, fiind analogi chimici ai metabolitului normal, acționează prin înlocuirea acestuia, determinând fie oprirea reacției, fie formarea unui nou metabolit care încetinește sau oprește reacția următoare din lanțul metabolic. De pildă, sulfanilamida se substituie în bacterii acidului p-aminobenzoic, împiedicând sinteza acidului folic; dicumarolul se substituie vitaminei K, determinând hemoragii; acidul piridin-3-sulfonic înlocuiește nicotinamida din NAD și NADP și de asemenea, carențează organismul în nicotinamidă; etionina, analog metioninei, induce o leziune biochimică prin formarea S-adenozil-etioninei în locul S-adenozil-metioninei, cu implicații în procesul de metilare și în sinteza proteică; 6-tiopurina și 5-fluorouracilul interferă cu bazele normale ale acizilor nucleici, realizând o "încorporare letală" etc.

Efecte nocive asupra acizilor nucleici. Bazele azotate conțin perechi de electroni neparticipanți și pot accepta structuri electrofile. Cancerigenii sunt substanțe cu structură foarte variată, însă majoritatea lor sunt reactanți electrofili. Unii cancerigeni și agenți antitumorali — ioni metalici, agenți alchilanți — sunt electrofili "per se". Alții, hidrocarburi policiclice condensate, nitrozamine, amine aromatice policiclice, sunt de fapt precancerigeni și necesită o prealabilă activare metabolică când se formează precursori cancerigeni și în final metabolitul ultim, cancerigen, puternic electrofil. Acesta se poate detoxica prin metabolizare sau se poate fixa covalent pe ADN,

macromolecula țintă sau pe alte molecule proteice. Alți cancerigeni determină perturbări în proprietățile ADN fără intervenția legăturii covalente, prin simplă intercalare în dubla elice a acestuia.

Interacțiunea xenobiotic-receptor. Receptorii farmacologici sunt formațiuni infrastructurale ale celulei, având proprietatea de a lega, mai mult sau mai puțin specific, anumite molecule endogene și exogene (medicamente și toxici). Majoritatea receptorilor sunt porțiuni ale membranei. Alții se găsesc în citoplasmă sau în subunități ale unei molecule de enzimă.

Inhibitorul (toxic, chimioterapic) are afinitate pentru receptor cu care poate forma un complex.

Interferența în neurotransmisie poate avea loc prin diferite mecanisme și la diverse nivele ale sistemului nervos, datorită: agenților blocanți ai receptorilor colinergici sau adrenergici la sinapsele interneuronale sau la joncțiunile neuroefectoare; unor inhibitori ai sintezei și eliberării neurotransmițătorilor; unor substituienți ai neurotransmițătorilor, cu acțiune proprie colinergică sau adrenergică.

Efecte toxice asupra transportului, difuzării și utilizării oxigenului, ca și asupra stocării energiei:

— *blocarea transportului de oxigen:* CO intră în competiție cu O_2 pentru Hb și formează carboxihemoglobina, blocând transportul de oxigen la țesuturi. Nitriții nitro- și aminoderivații aromatici, precum și alte methemoglobinizante transformă Hb (Fe^{2+}) în MetHb (Fe^{3+}) care nu transportă oxigenul. Totuși, mici cantități de MetHb sunt reduse la Hb în hematii. Dacă MetHb este în cantitate mare sau în deficit de glucozo-6-fosfat-dehidrogenază, reducerea spontană nu se mai realizează. Sulfonamidele în prezența methemoglobinizantelor transformă Hb în sulfhemoglobină, netransportoare de oxigen.

Derivații de hidrazină lezează membrana eritrocitară cu eliberarea Hb din eritrocit (hemoliză), iar hemoglobina plasmatică nu transportă oxigenul;

— *împiedicarea difuzării oxigenului:* unii anestezici (eter, halotan) și solvenți organici nepoleri se acumulează în lipidele membranare și împiedică difuzarea oxigenului și glucozei în interiorul celulei. Neuronul este deosebit de sensibil la lipsa acestor substanțe;

— *împiedicarea utilizării oxigenului:* cianurile complexează Fe^{3+} din citocromoxidază; tranferul de electroni pe lanțul mitocondrial poate fi blocat la diferite nivele;

— *risipirea energiei sub formă de căldură:* dinitrofenolul și dinitroortocrezolul produc decuplarea fosforilării oxidative, când oxigenul este bine utilizat, însă energia nu se acumulează în fosfații macroergici (ATP) putând fi apoi utilizată de celule, ci se pierde sub formă de căldură.

Antagonismul între ioni: Cd^{2+} este antagonistul Zn^{2+} și Cu^{2+}, probabil prin competiție pentru situsurile de transport.

Inducerea reacțiilor de sensibilizare: unii toxici (izocianați, formaldehidă, anhidridă ftalică etc.) și medicamente (antibiotice, sulfamide, antipiretice-analgezice, etc.) induc sensibilizare datorită proprietății de a juca rol de haptenă. Aceasta se unește în organism cu o macromoleculă, realizând antigene care determină, ca răspuns, sinteză de anticorpi.

Factori determinanți ai toxicității

Toxicitatea unei substanțe depinde de doza, structură chimică, puritatea, modul de administrare și interacțiunile sale cu alți compuși.

Structura chimică

Grupările chimice conferă caracterul hidro- sau liposolubil şi, deci, şi tipul de acţiune biologică.

Grupările toxofore: =C=, =S, $-NO_2$, —N=C<, —CN, ≡P<, asemănătoare grupărilor cromofore din coloranţi, sunt responsabile de toxicitate, iar grupările autotoxe (halogeni, oxizi inferiori, $-NH_2$, >C=C<, $-C_6H_5$, $-C_6H_4$, $-CH_2-$), asemănătoare grupelor auxocrome, intensifică acţiunea toxică.

Stereoizomeria determină variaţii în intensitatea şi tipul de acţiune toxică, datorită faptului că substanţele biologic active reacţionează cu receptorii (enzimele) care, de regulă sunt substanţe optic active. Asemănarea sau diferenţierea în structura izomerilor optici dirijează formarea legăturilor toxic-receptor. Izomerii geometrici pot determina de asemenea variaţii ale intensităţii legăturii toxic-receptor datorită distanţei dintre grupările reactive, conformaţiei etc.

Activitatea electronică (distribuţia şi conformaţia electronică în mole ulă) influenţează toxicitatea. Se consideră că electronii π de valenţă sunt activi biologic. Densitatea electronică inegală în diferite puncte ale moleculei îi conferă polaritate şi centri de maximă densitate electronică.

Proprietăţile fizico-chimice ale toxicilor

Starea de agregare influenţează pătrunderea toxicilor în organism; toxicii gazoşi acţionează rapid şi intens când pătrund pe cale respiratorie.

BCU IAŞI CENTRU VECHI LIBRARY

Masa moleculară mare şi *gradul mic de dispersie* influenţează negativ viteza de absorbţie.

Volatilitatea crescută măreşte riscul intoxicării.

Hidro- şi liposolubilitatea, ca şi raportul lipo/hidrosolubilitate influenţează cinetica absorbţiei. O substanţă insolubilă nu poate fi absorbită. Dizolvarea este condiţionată, în primul rând de lipofilie (dependentă de grupările chimice) deoarece membrana de traversat este lipoidică, iar molecula trebuie să se dizolve în ea. În plus, după depăşirea membranei, molecula difuzează în apa protoplasmatică, apoi în apa extracelulară, încât trebuie să posede o anumită hidrofilie.— În cazul pătrunderii pe *cale respiratorie,* când hidrosolubilitatea este mare (coeficient lipide/apă mic) — alcoolul — organismul are o capacitate de absorbţie mare. Saturarea organismului şi eliminarea pulmonară au loc lent, ceea ce conduce la intoxicaţii în timp, prin acumulare. Din contra, atunci când hidrosolubilitatea este mică (coeficient lipide/apă mare) — benzenul — saturarea organismului şi eliminarea pulmonară au loc rapid, producându-se intoxicaţii acute.

— În cazul pătrunderii *transcutanate,* riscul intoxicaţiei depinde deopotrivă de liposolubilitate şi de hidrosolubilitate. De aceea, substanţele cu coeficient lipide/apă mediu —eterul — prezintă un risc cutanat crescut.

— *Calea digestivă,* este aplicabilă atât substanţelor hidrosolubile cât şi celor liposolubile. Absorbţia substanţelor disociabile este influenţată de pH-ul segmentului digestiv respectiv.

Ionizare, pH-pK: acizii slabi (barbituric, salicilic), neionizabili în mediu acid, sunt absorbiţi în stomac, pe când bazele slabe (alcaloizi,

amfetamină, imipramină), puternic ionizate în mediu acid, sunt absorbite în duoden, al cărui mediu este alcalin.

Puritatea, degradarea, condițiile de recoltare și condiționare, concentrația din produs

Impuritățile pot influența acțiunea toxică. Conservarea necorespunzătoare este capabilă să modifice toxicitatea (acizii păstrați în recipiente de plumb, dizolvă metalul devenind toxici). Perioada de recoltare, aria geografică, condițiile meteorologice influențează conținutul în principii active al plantelor. Operațiile de spălare, fierbere, etc., pot micșora toxicitatea ciupercilor.

Calea și viteza de administrare

Calea și viteza de administrare influențează intensitatea acțiunii toxice, perioad de latență până la apariția efectului toxic, precum și durata acțiunii toxice. De asemenea, poate fi modificat tipul de acțiune ($MgSO_4$ administrat oral este purgativ, iar parenteral, este deprimant al sistemului nervos central.

Interacțiuni

Două sau mai multe xenobiotice interacționează între ele sau cu anumiți constituenți ai alimentelor. Efectul interacțiunii poate fi:

Sinergic, când cele două substanțe au același sens de acțiune. Dacă suma efectelor este egală sau mai mică decât efectele celor două substanțe considerate separat (ex. bromuri alcaline) se obține *sumare*

sau *adiție*. Dacă suma lor este mai mare, efectul reprezintă o *potențare* (barbiturice + etanol, morfină + amfetamină).

Indiferent, când acțiunea celor două substanțe se desfășoară independent una de alta, fără a interacționa între ele.

Antagonic, când acțiunea celor două substanțe are sens contrar, rezultând un efect global micșorat, nul sau inversat (de pildă, anticolinergice + morfină, antiparkinsoniene + fenotiazine etc.).

Absorbția poate fi stimulată sau inhibată la administrarea orală a două sau mai multe xenobiotice, prin:

— Modificări fizico-chimice în tubul digestiv, datorate: variației pH-ului gastric sau intestinal (substanțele antiacide scad absorbția substanțelor acide); chelatării sau complexării cu întârzierea absorbției (sărurile metalelor grele + agenți chelanți, săruri de calciu, magneziu, fier, aluminiu + tetracicline); neutralizării reciproce (heparină + protamină);

— Variații ale motilității gastrointestinale: laxativele și colinergicele, crescând peristaltismul, reduc absorbția riboflavinei, care are loc predominant în porțiunea superioară a intestinului subțire (sediul principal al absorbției) și facilitează absorbția vitaminei B_{12} din ileon; anticolinergicele, scăzând peristaltismul, produc efecte inverse în absorbția riboflavinei și vitaminei B_{12};

— Leziuni ale mucoaselor gastrointestinale sunt observate în cazul substanțelor corozive, caustice, colchicinei, neomicinei etc.

Fixarea pe proteine (*plasmatice* sau *receptori tisulari*) poate fi modificată prin două mecanisme:

Competiția pentru proteinele plasmatice (în timpul transportului sau depozitării) are loc pentru centrii oferiți de proteine, între două substanțe, ambele cu afinitate pentru acestea. Substanțele cu

afinitatea cea mai mare (cu caracter acid, ca fenilbutazona, acidul tricloracetic sau bazic, ca imipramina, difenilhidantoina) ocupă locul celeilalte substanțe. Aceasta, împiedicată să se fixeze, rămasă liberă, se echilibrează la locul acțiunii la un nivel mai ridicat, rezultând potențare. Astfel, warfarina se fixează pe proteinele plasmatice în proporție de 97%, rămânând liberă numai 3%; dacă o substanță competitivă deplasează din fracțiunea fixată încă 3%, concentrația formei libere se dublează, crescând în mod periculos cantitatea de protrombină la subiecții tratați cronic cu anticoagulante.

Competiția pentru receptorii tisulari (sau centrii activi) determină modificări în structura terțiară a proteinei (cu reducerea numărului centrilor de fixare) dacă unele substanțe, împiedicate să se fixeze pe proteina specifică, se fixează pe alți centri.

Metabolizarea: prin unele asocieri de xenobiotice se poate determina creşterea sau scăderea ratei de metabolizare – cu toate consecințele sale pentru toxicitate – prin fenomenul de inducție sau de inhibiție enzimatică.

Inducția enzimatică reprezintă accelerarea metabolizării xenobioticelor ca urmare a stimulării sintezei şi activității enzimelor microzomiale.

Inhibiția enzimatică este fenomenul invers inducției şi este observată la iproniazidă, catron, nialamină, cloramfenicol, compuşi organofosforici, ozon, tetraclorură de carbon.

Eliminarea este accelerată sau întârziată prin:

– Competiție pentru folosirea aceleaşi căi (penicilina şi probenecidul folosesc, ambele, transportul activ tubular, rezultând întârzierea eliminării penicilinei, cu prelungirea activității sale);

— Alcalinizarea sau acidifierea urinei (alcalinizarea întârzie eliminărea penicilinei, cu prelungirea activității sale);

— Alcalinizarea sau acidifierea urinei (alcalinizanții ionizează barbituricii, sulfamidele, salicilații, împiedicându-le reabsorbția și accelerându-le eliminare; dimpotrivă, acidifianții grăbesc eliminarea amfetaminei, imipraminei, antipirinei, bazelor purinice).

Pericolul asocierii xenobioticelor constă în: posibilitatea creșterii toxicității substanțelor nocive; intensificarea activității și toxicității unor medicamente (în special cu margine îngustă de siguranță); anularea efectului farmacologic, uneori cu rezultat fatal, ca în cazul coagulantelor.

Factori dependenți de organism

Specia: talidomida este teratogenă la om și iepure, dar nu și la hamster; toxicitatea α-naftilureei este de peste 500 de ori mai mare la maimuță decât la șobolan.

Sexul: S-a constatat o mai mare frecvență și intensitate a reacțiilor adverse și a toxicității la unele medicamente și toxici, la femeie față de bărbat. Au fost incriminați factori psihosomatici, metabolici (metabolizarea ar fi mai lentă la femeie), hormonali (la animal, diferența de toxicitate între sexe a fost observată numai după pubertate sau după castrare).

Vârsta: Fetusul și *nou-născutul* prezintă o sensibilitate deosebită la numeroase medicamente, în funcție de mecanismele de acțiune ale acestora.

Vârstnicii manifestă o frecvență crescută a accidentelor terapeutice, datorită mai multor factori.

Graviditatea. Placenta este permeabilă pentru unele xenobiotice sau poate interveni direct în biotransformarea lor. Majoritatea xenobioticelor cu M<1000 traversează placenta prin transfer activ sau pasiv şi se regăsesc în sângele fetusului. Transferul este maxim între săptămâna a 6-a şi a 20-a de gestaţie. În placentă pot avea loc reacţiile din faza I a metabolizării, însă reacţiile din faza a II-a sunt deficitare din cauza activităţii reduse a glucuronil-transferazei.

Masa şi suprafaţa corporală. S-a constatat la animal că exemplarele cu masă corporală mică necesită, proporţional, o cantitate mai mare de substanţă pentru a răspunde în acelaşi mod ca animalele cu masă corporală mare (din aceeaşi specie).

Starea psihică. Substanţele biologic active acţionează sinergic cu nivelul stresului.

Stările patologice. Afecţiunile renale scad eliminarea substanţelor excretabile preponderent pe cale urinară (antibiotice, digitalice), crescându-le semiviaţa plasmatică; dacă dozele nu sunt reduse, pot apărea efecte toxice. Afecţiunile hepatice determină încetinirea sau insuficienţa metabolizării medicamentelor, rezultând acumularea lor (2-metilaminofluorenul formează derivatul N-hidroxi, cancerigen, într-o rată mai mare la animalele tarate hepatic).

Factorii genetici. Până în prezent evidenţiat mai multe enzimopatii, corelate cu absorbţia unor xenobiotice.

— Alcooldehidrogenaza (ADH) este principala enzimă care metabolizează etanolul; s-a decelat la om existenţa izoenzimelor şi a polimorfismului ADH, ceea ce explică, cel puţin parţial, sensibilitatea rasială şi individuală la efectele etanolului;

— Monooxidaza transformă benzantracenul (precancerigen) în epoxid (cancerigen); într-un lot reprezentativ s-a găsit că 10 din

subiecți manifestau activitate monooxidazică puternică, fiind deci expuși la cancer pulmonar datorat acestei hidrocarburi policiclice existente în mediu (fum de țigară, pulbere de asfalt);

— Glucozo-6-fosfat dehidrogenaza (G-6-PD) intervine în metabolizarea glucozei pe cale pentozică; deficitul în această enzimă afectează 3% din populația globului, dar deficitul rămâne inaparent până la administrarea unor substanțe oxidante (antimalarice, sulfamide, sulfone, analgezice-antipiretice), când calea pentozică este suprasolicitată și, deoarece desfășurarea reacțiilor pe această cale este deja deficitară (prin lipsa sa G-6-PD), apar hemoliză și methemoglobinemie, cu manifestările clinice corespunzătoare.

Bioritmul: bioritmurile pot fi ultradiene (peste 24 ore), circadiene (aprox. 24 ore) și infradiene (sub 24 ore). Ritmurile ultradiene au fost evidențiate atât la om cât și la animal. În general, reacțiile sunt mai rapide și mai intense în perioada de veghe, când dinamica enzimatică este maximă, corespunzând la o producție maximă de energie, decât în perioada pasivă (de odihnă și somn).

Loturi identice de animale au prezentat letalități diferite, în funcție de ora administrării, pentru unii agenți fizici (zgomot, radiații X, etc.) și chimici (nicotină, stricnină, fenobarbital, acetilcolină, etanol). La om, variațiile circadiene au fost evidențiate pentru histamină, salicilat de sodiu, rezerpină, insulină, etanol, lignocaină, clorotiazidă, corticosteroizi etc.

Factori dependenți de mediu: alimentația, condițiile de confort, temperatura, presiunea atmosferică, zgomotul, radiațiile ionizante, poluanții din mediu, fumatul etc. au, de asemenea, efecte certe asupra toxicității.

Profilaxia intoxicațiilor

— înlocuirea substanțelor toxice și/sau modificarea proceselor tehnologice nocive;

— legiferarea manipulării substanțelor nocive;

— educația sanitară și instructajele periodice de protecția muncii;

— folosirea tehnologiilor de fabricare în instalații ermetice și etanșe, a ventilației adecvate (naturală și mecanică), a semnalizatoarelor de alarmă la depășirea CMA etc.;

— supravegherea medicală a muncitorilor prin: examen medical la angajare și depistarea unor predispoziții la intoxicații, înlăturând acele persoane de la locurile de muncă cu noxe și reducând incidența intoxicațiilor profesionale (profilaxie primară); examen medical periodic și examene speciale, când se depistează intoxicațiile în stadiu incipient, luând măsuri pentru evitarea agravării lor;

— examinarea toxicologică a toxicilor din atmosferă și stabilirea măsurilor necesare pentru scăderea concentrațiilor toxicilor sub limita admisă;

— izolarea muncitorilor de mediul toxic (când trebuie lucrat într-un astfel de mediu) prin profilaxie individuală: echipament de protecție și mască, aplicarea de unguiente de protecție, respectarea igienei individuale etc.

Tratamentul intoxicațiilor acute (măsuri de prim ajutor)

Primele măsuri de reanimare respiratorie. Imediat după evacuarea din mediul toxic, dacă intoxicatul prezintă respirație anormală, culoare

neobişnuită a tegumentelor (roşie deschisă, albastră, cianotică), tulburări psihice, se trece, chiar la locul accidentului şi în timpul transportului către o unitate sanitară, la aplicarea măsurilor de prim ajutor, şi anume:

Eliberarea căilor respiratorii superioare se face prin desfacerea îmbrăcămintei de la gât, îndepărtarea eventualilor corpi străini din gură (proteze), ştergerea cavităţii bucale, aspirarea mucozităţilor. Pentru păstrarea căilor aeriene libere se menţine gura intoxicatului întredeschisă pe tot timpul transportului, iar la intoxicatul inconştient se asigură poziţia de decubit lateral cu ajutorul unei pături făcute sul, ceea ce permite scurgerea lichidelor de secreţie şi previne inhalarea de mucozităţi etc.

Respiraţia artificială se aplică dacă respiraţia nu revine la normal şi se practică prin prin procedeele "gură la gură" sau "gură la nas" (nu se aplică în intoxicaţiile cu HCN, CN^-, gaze toxice, compuşi organofosforici). Intoxicatul va fi plasat în poziţie de decubit dorsal, întins pe un plan orizontal dur, cu capul în hiperextensie (cu ajutorul unui sul aşezat sub cap).

Oxigenoterapia, aplicată atât în cursul respiraţiei spontane, cât şi artificiale, se practică de obicei prin sondă nazofaringiană (în intoxicaţia cu CO este indicată oxigenoterapia hiperbară).

Îndepărtarea toxicilor neabsorbiţi se realizează prin:

Provocarea de vărsături se aplică în lipsa posibilităţii efectuării spălăturii gastrice. Se administrează intoxicatului 300 ml apă (o cantitate mai mare ar determina forţarea pilorului şi trecerea toxicului în duoden), apoi de declanşează reflexul de vomă prin excitarea mecanică a fundului gâtului. După evacuarea conţinutului gastric se

repetă operația de câteva ori, cu noi cantități de câte 300 ml apă, până la o cantitate totală de 3-4 litri apă. Metoda este contraindicată la intoxicații comatoși, cardiaci, vârstnici hipertensivi și ateroscleroticî, emfizematoși, gravide și parțial contraindicată la ingerarea de corozivi și caustici concentrați și în mari cantități sau de distilate petroliere și detergenți, precum și la subiecții la care toxicul ingerat a provocat covulsii.

Spălătura gastrică realizează îndepărtarea toxicilor neabsorbiți din stomac. Dacă intoxicatul este conștient se practică spălătura cu apă, suspensie de cărbune activat, cu sau fără antidot, prin sonda Faucher introdusă în stomac pe cale faringo-esofagiană. Dacă intoxicatul este comatos, sonda se introduce pe cale nazală, iar calea aeriană este intubată cu o sondă prevăzută cu un balonaș obturator, pentru a evita aspirarea conținutului gastric în căile aeriene și asfixierea intoxicatului. Porțiunile de lichid de spălătură se păstrează pentru analize toxicologice și chimico-legale.

Purgativul — de obicei sulfatul de sodiu — este administrat după golirea stomacului prin vărsătură sau spălătură (în acest caz purgativul este introdus prin sondă).

Spălarea tegumentelor are rolul împiedicării absorbției toxicului transcutanat. După ce se îndepărtează rapid îmbrăcămintea, se spală tegumentele cu apă și săpun (15 minute), de preferință sub duș.

Spălarea sacului conjunctival se realizează cu apă în jet la presiune mică, timp de 5-10 minute, menținând pleoapele îndepărtate de globul ocular.

Administrarea antidoturilor

Printre însuşirile antidoturilor se pot enumera: acţiunea specifică asupra unui complex funcţional celular; o activitate ridicată; nu determină efecte adverse; nu eliberează, prin biotransformare, metaboliţi toxici; posedă un efect antidotic persistent pentru o perioadă de timp cunoscută. Numărul antidoturilor cu aceste calităţi este restrâns, astfel încât numai 2% din intoxicaţiile acute beneficiază de tratament antidotic.

Antidoturile se administrează pe cale orală (înainte, o dată cu, sau după spălătura gastrică) pentru inactivarea toxicilor neabsorbiţi din tubul digestiv, sau pe cale orală ori parenterală pentru inactivarea toxicilor deja absorbiţi.

Antidoturile care inactivează toxicii din tubul digestiv acţionează prin:

Absorbţie: cărbunele activat adsoarbe unii toxici organici şi anorganici. Adsorbţia este micşorată sau împiedicată de alimentele din stomac care astupă porii particolelor de cărbune, dar nu este practic influenţată de pH-ul mediului. Eficacitatea este maximă la 30 minute după ingerarea toxicului, dar antidotul este util şi mai târziu, când toxicul a trecut de pilor.

Oxidoreducere: permanganatul de potasiu, rar folosit, este eficient în intoxicaţia cu morfină, atropină, cocaină, barbiturice etc. Activitatea antidotică este accentuată de mediul alcalin şi limitată de causticitatea pentru mucoasa gastrică.

Formare de compuşi insolubili (puţin solubili): albuşul de ou şi laptele, datorită proteinelor din compoziţia lor, precipită ca albuminaţi unii alcaloizi şi săruri de metale grele; fiind emoliente, scad

efectele substanțelor corozive și caustice. Sunt contraindicate în intoxicația cu toxici liposolubili (paration, solvenți organici etc.). *Acidul tanic* este rar folosit datorită hepatoxicității sale; precipită alcaloizii, glicozizii, sărurile metalice. *Sărurile solubile de calciu* (lactat, gluconat, clorură) precipită acidul oxalic, acidul fluorhidric, fluorurile, ca săruri insolubile de calciu. *Oxidul de magneziu* precipită anhidrida arsenioasă, arseniții, ca săruri de magneziu insolubile și este indicat, de asemenea, în intoxicația cu acizi. *Sulfatul de magneziu* precipită sărurile de bariu și de plumb, dând combinații insolubile. *Clorura de sodiu* precipită azotatul de argint.

Formarea de compuși solubili netoxici: unele substanțe antiacide, ca oxidul de magneziu, sunt indicate la ingerarea de acizi; nu se recomandă administrarea *per os* de bicarbonat de sodiu și carbonat de sodiu, deoarece în contact cu acizii degajă CO_2, provocând distensie gastrică soldată uneori cu perforația peretelui stomacal deja lezat. Unele *substanțe antialcaline*, cum ar fi soluția 1% de CH_3COOH, se recomandă uneori la ingerarea bazelor caustice; este însă mai eficace administrarea, chiar la locul accidentului, de apă potabilă, repetat, și provocare de vărsături, deoarece mai târziu în intoxicațiile severe actul deglutiției nu mai este posibil. *Soluția de săpun* este antidot pentru detergenții cationici, dând compuși inactivi (după care se provoacă vărsături).

Chelatorii capabili să stabilească legături cu cationii metalici prin electronii neparticipanți (de la –N, -O, -SH) formează chelați ciclici, stabili, solubili, netoxici. Stabilitatea crește cu cifra de coordinare a metalului. Utilizarea chelatorilor ca antidot este limitată de: competiția între metalul toxic și metalele indispensabile organismului pentru același chelator (spoliere de metale); competiția

între chelatorul antidot şi chelatorii naturali (compuşi cu grupări –SH, ca enzime, tioaminoacizi etc.) pentru acelaşi metal (ineficienţa antidotului).

Principalii chelatori cu rol de antidot sunt:

Sărurile acidului etilendiaminotetraacetic (EDTA) (acid edetic) şi compuşii înrudiţi sunt antidoturi în intoxicaţii cu numeroase metale. De la acidul etilendiaminotetraacetic:

$$(HOOC{-}H_2C)_2N{-}CH_2{-}N(CH_2{-}COOH)_2$$

derivă următoarele antidoturi:

— EDTA—$CaNa_2$ (Edetamin) este antidot în intoxicaţia cu Pb, precum şi cu alte metale (Ni, Cr, Fe, Cu, Mn, Cd, Co), dar puţin eficace în cazul Hg. Are loc un schimb ionic între calciu şi acel metal toxic cu mai mare afinitate pentru complexon decât Ca. Se formează complexonaţi (chelaţi interni) tridimensionali, cu stabilitate diferită, în funcţie de constanta lor de disociere.

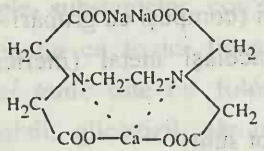
— EDTA—Na_2 este recomandat în intoxicaţia cu digitalice, deoarece complexează Ca^{2+} (crescut în acest tip de intoxicaţie).

— EDTA—Co_2 (Kelocyanor) este antidot în intoxicaţia cu CN^-, pe care-l fixează în două trepte, întrucât EDTA—Co_2 se disociază în două trepte:

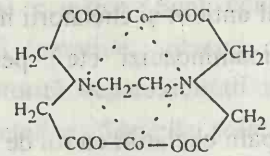
$$EDTA{-}Co_2 \rightarrow [EDTA{-}Co]^{2-} + Co^{2+} \rightarrow EDTA^{4-} + 2Co^{2+}$$

$$Co^{2+} + 6CN^- \rightarrow [Co(CN)_6]^{4-}$$

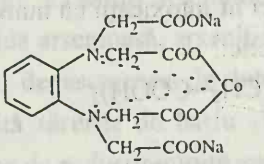
Deoarece Kelocyanor se administrează în doză mai mare decât este necesar pentru fixarea CN^-, rămâne un exces de Co^{2+}; din această cauză se administrează, la 15 minute după Kelocyanor, EDTA—$CaNa_2$ care fixează excesul de Co^{2+}. Kelocyanor manifestă toxicitate la nivel cardiovascular atunci când, din eroare, este administrat unui subiect neintoxicat cu CN^-. La supradozare apar efecte toxice.



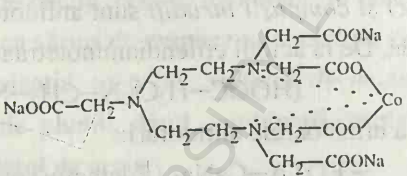
EDTA-$CaNa_2$



EDTA-Co_2



DCTA-$CaNa_2$



DTPA-$CaNa_2$

Săruri ale EDTA si ale compusilor înruditi

— DCTA—$CaNa_2$ (*diaminociclohexantetraacetatul de sodiu şi calciu*) este folosit în intoxicaţia cu Cd, pentru că formează chelaţi mai puţin toxici decât EDTA—$CaNa_2$.

— DTPA—$CaNa_3$ (*dietilentriaminopentaacetatul de sodiu şi calciu)* este recomandat în intoxicaţia cu radioelemente din seria lantanidelor, ca şi cu unele metale grele (Pb, Fe, Mn).

D-Penicilamina (β, β—dimetilcisteina) (fig. 5) este antidot în intoxicaţia cu metale grele, în special cu Hg (mineral şi organic). De asemenea, este indicată în tratamentul bolii Wilson (o degenerare hepatolenticulară prin depunere intracelulară de Cu în ficat, consecinţă a unui deficit în ceruloplasmină). Este contraindicată în intoxicaţia cu Cd (formează chelaţi nefrotoxici). Toxicitatea D-penicilaminei fiind redusă, permite un tratament îndelungat; s-au semnalat şi unele reacţii adverse.

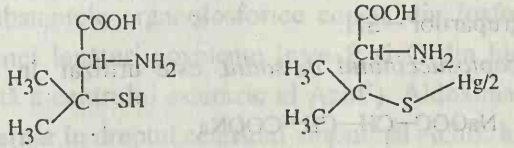
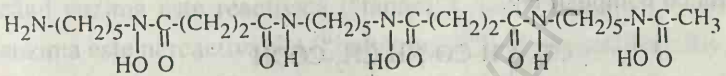


Fig. 5. D - Penicilamina + sarea mercurica a D - Penicilaminei

Ditiocarb (dietilditiocarbamatul de sodiu), $(C_2H_5)_2N{-}C(S){-}SNa$ este recomandat în special în intoxicația cu nichel carbonil.



Desferioxamina (Desferal)

Desferioxamina (Desferal) este recomandată în intoxicația cu fier și în hemocromatoză. Fierul este eliminat prin legare covalentă la nivelul resturilor hidroxamice, rezultând un complex ferioxamic eliminabil renal. Desferal nu scoate Fe^{2+} din hemoglobină, citocromi etc. și nici nu spoliază organismul în alte microelemente.

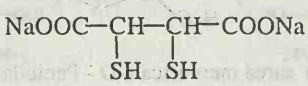
Antidoturi cu grupări —SH (care nu formează legături coordinative):

Dimercaptopropanolul (DMP) a fost utilizat pentru prima dată (1941) ca antidot al levizitei (se mai numește BAL, de la cuvintele British Anti-Lewisite). Este utilizată ca antidot în intoxicațiile acute cu As și Hg (mineral), însă este mai puțin eficient în intoxicațiile cu Cd, Pb, Fe, Se, V, ca și în cazul leziunilor hepatorenale grave.

DMP leagă metalul în stare ionică din combinațiile organice sau fixat pe –SH din enzime (proteine). Acesta are dezavantajul spolierii organismului de unele metale utile (Cu, Zn, Ca, Mg) și

inactivarea insulinei, citocromoxidazei etc. datorită acțiunii reducătoare a grupărilor —SH.

Dimercaptosuccinatul de sodiu, este utilizat în intoxicația

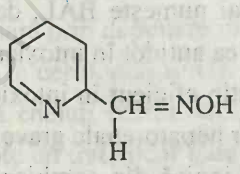


cu $HgCl_2$ și a fost încercat și în intoxicația cu Pb (1978). Este mai puțin toxic decât DMP și nu spoliază organismul de microelemente.

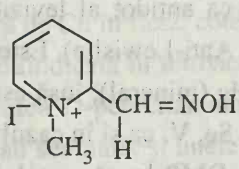
— *Thiola (2-mercapto-propionilglicocolul),* este indicat în intoxicația cu compușii Hg.

— Reactivatorii colinesterazei de tip aldoximic au fost introduși în terapeutică în 1955 de Wilson. În prezent se folosesc:

Pralidoxima (PAM-2) (metiliodura de piridilaldoximă) și *obidoxima (toxogonin).* Substanțele organofosforice — insecticide, substanțe toxice de luptă etc. — blochează centrul activ al acetilcolinesterazei (AchE), împiedicând accesul la enzimă al substratului său natural, acetilcolina; aceasta se acumulează la nivelul sinapselor, conducând la fenomene toxice. Reactivarea AchE are loc spontan, dar lent prin hidroliză.



Pralidoxima (2-Piridinaldoxima)



2-PAM

BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Mecanismul acestei reactivări este următorul: blocarea AchE de către substanțele organofosforice constă din fosforilarea sa, prin stabilirea unei legături covalente între P şi O din hidroxilul serinei (componentă a centrului esterazic al AchE). Aldoxima se plasează cu azotul cuaternar în dreptul centrului anionic al AchE; hidrogenul de pe gruparea oximă reface centrul esterazic al AchE (:N...HO—) iar restul fosforic se leagă de aldoximă, eliberând enzima (v. insecticide organofosforice). O altă substanță, 2-PAM (iodura de metilpiridinaldoximă-2) este un reactivator şi mai eficient al colinesterazei.

Acest proces are loc dacă tratamentul este aplicat imediat, când enzima este reactivată ("tânără"). Dacă tratamentul este tardiv, enzima este nereactivabilă ("îmbătrânită"), rămânând definitiv blocată. Se presupune că aldoxima reacționează, în afara acestui mecanism de reactivare, şi prin facilitarea transmisiei neuromusculare pre- şi postsinaptice, ceea ce contribuie la revenirea la normal a transmisiei blocată de către organofosforice.

Toxigoninul, deşi are în structură doi radicali amoniu cuaternar, poate străbate bariera hematoencefalică, permițând reactivarea acetilcolinesterazei din SNC.

Antidoturile fiziologice (antagoniştii) sunt:

Atropina este folosită în intoxicația cu substanțe organofosforice, în care caz combate efectele muscarinice declanşate de acumularea de acetilcolină, însă nu acționează asupra blocării periferice a transmisiei neuromusculare din această intoxicație. Administrarea de atropină trebuie efectuată urgent, chiar la locul accidentului, şi în doze mari; pericolul supradozării este mai mic decât cel al subdozării, iar dozele mici de atropină periclitează viața intoxicatului.

Fizostigmina (eserina), o amină terțiară, combate acțiunea substanțelor anticolinergice (colinolitice), fiind un inhibitor reversibil

al colinesterazei. Asemănător acționează și aminele cuaternare *neostigmina (prostigmin), miostin)* și *piridostigmina.*

Nalorfina, levalorfanul și naloxanul combat efectele toxice majore ale analgezicelor narcotice de tip morfinic, acționând competitiv asupra aceloraşi receptori şi crescând sensibilitatea centrului respirator față de bioxidul de carbon. Aceşti antagonişti nu sunt recomandați în intoxicația cu alte deprimante ale SNC.

Vitaminele utilizate ca antidoturi sunt:

Acizii folic și *folinic* sunt antidoturi în intoxicația cu citostatice (aminopterină, metotrexat). Citostaticele acționează ca antimetaboliți ai acidului folic, inhibând reductaza acidului dihidrofolic, deci blocând sinteza acidului folinic, respectiv a acizilor nucleici. Administrarea acizilor folic şi folinic restabileşte această sinteză.

Vitamina K_1 este antidotul specific pentru anticoagulantele orale — derivați de cumarină și indantionă. Aceasta are rol de coenzimă în sinteza complexului protrombinic, implicat în coagulare.

Hidroxicobalamina (vitamina B_{12a}) este indicată în intoxicația cu cian· ·i, deoarece are mare afinitate pentru CN^-, dislocuindu-l din ciancitocromoxidază. Acțiunea antidotică a vitaminei B_{12a} este sinergică cu a tiosulfatului.

Piridoxina (vitamina B_6) este antidot fiziologic în intoxicația cu izoniazidă, care se însoțește de scăderea piridoxemiei.

Antidoturile cu acțiune indirectă sunt:

Nitritul de sodiu (sau amil) este antidot pentru CN^-. Nitritul produce methemoglobină care, având mai mare afinitate pentru citocromoxidază decât ionul cian, îl deplasează și formează cianmethemoglobină, eliberând astfel citocromoxidaza.

Tiosulfatul de sodiu este antidot pentru CN^-, însă prin alt mecanism decât nitritul. În mod normal CN^- se detoxifică sub acțiunea

rodanazei. Administrarea tiosulfatului, substratul necesar enzimei, accelerează ritmul de formare a SCN^-.

Albastrul de metilen este antidot pentru methemoglobinizante. Acestea transformă o parte de Hb (Fe^{2+}) în MetHb (Fe^{3+}) incapabilă de a transporta oxigenul. Albastrul de metilen funcționează ca un sistem redox: el se reduce la derivatul leucometilen, care reduce apoi MetHb la Hb. Derivatul leucometilen se reface, oxidându-se prin intermediul sistemului diaforazic, având drept coenzime pe NADH şi NADPH. În acest mod se activează concomitent ciclul pentozic, dependent de aceste coenzime.

Alte sisteme redox utilizate ca antidoturi pentru methemoglobinizante sunt *tionina* şi *acidul ascorbic.*

Etanolul este antidot pentru metanol şi etilenglicol. Ambii alcooli îşi manifestă toxicitatea, în mare măsură, prin metaboliții lor toxici. Metabolizarea are loc sub acțiunea alcooldehidrogenazei (ADH), iar aceeaşi enzimă catalizează şi metabolizarea etanolului, pentru care posedă însă mai mare afinitate decât pentru ceilalți alcooli. Prin administrare de etanol în intoxicațiile cu metanol şi etilenglicol, metabolizarea acestora este blocată, căci ADH este saturată de etanol.

Clorura de sodiu este antidot pentru Br^-. Fiind mai hidrosolubil decât Cl^-, ionul de brom îl înlocuieşte pe acesta din mediile biologice, rezultând fenomene toxice. Administrarea de ser fiziologic concomitent cu salidiuretice determină o diureză forțată salină, când se elimină atât NaCl cât şi NaBr, debarasând astfel organismul de Br^-.

Oxigenul hiperbar (2-3 atm) este antidot pentru CO, combătând hipoxia determinată de acesta. Acțiunea antidotică se bazează pe competiția între CO şi O_2 pentru hemoglobină, mioglobină şi citocromi. Administrarea de O_2 100%, sub presiune, determină creşterea cantității de O_2 solvit în plasmă, cu reducerea hipoxiei şi

accelerarea procesului de descompunere a carboxihemoglobinei în hemoglobină şi CO.

Citocromul C este recomandat uneori în intoxicaţia cu CO, deoarece întrerupe lanţul reacţiilor care conduc la hipoxie tisulară.

Pseudocolinesteraza exogenă sau plasma joacă rol de tampon fiziologic în intoxicaţia cu organofosforice, suplinind colinesteraza plasmatică inhibată de toxic.

Favorizarea eliminării toxicilor absorbiţi

Diureza forţată se recomandă în cazul toxicilor cu eliminare renală. Hemodializa se aplică toxicilor dializabili, iar hemoperfuzia toxicilor absorbabili pe cărbune activat. În cazul toxicilor gazoşi şi volatili se aplică ventilaţia mecanică, iar în cel al oxidului de carbon, oxigenoterapia hiperbară.

Tratamentul simptomatic. Măsurile de asigurare a funcţiilor vitale constituie adesea primul act din ansamblul măsurilor terapeutice de urgenţă.

Tratamentul intoxicaţiilor cronice este, de regulă, simptomatic şi vizează restabilirea funcţiilor vitale sau redresarea unor organe afectate de toxic. În intoxicaţiile cronice cu metale (Pb, Hg, Mn) se administrează periodic chelatori pentru descărcarea organismului de toxic. În intoxicaţiile cronice cu medicamente care produc toleranţă şi dependenţă, se practică scăderea progresivă a dozelor şi, uneori, aplicarea temporară a unor produse de sinteză (metadonă în morfinomanie), împreună cu alte măsuri terapeutice adecvate.

4. TOXICOLOGIE INDUSTRIALĂ

Proprietățile toxicologice ale elementelor și ale compușilor chimici în general depind nu numai de structura lor electronică și de legăturile chimice dintre elemente, ci și de organismele vii cu care interacționează.

Proprietățile toxicologice în grupe și perioade. Dacă studiem grupa halogenilor, constatăm o toxicitate asemănătoare ale acestor elemente. De pildă, concentrația maximă admisibilă a fluorului, clorului, bromului și iodului este de 1 mg/m^3. Cu toate acestea, de pildă fluorul este indispensabil organismului (0,5 mg F/zi), iar iodul constuie un microelement important, necesar biosintezei tiroxinei. Clorul se găsește în cantitate mare în corp sub formă de NaCl.

Dozele letale pentru compușii halogenați sunt diferite: 15 g HF soluție, 5-10 g NaF, în timp ce clorura de sodiu este utilizate ca alimente, iar iodura de potasiu a fost aplicată ca medicament în doze de până la 1 g/zi. Se poate vorbi de toxicitatea bromului și iodului, în măsura în care aceste elemente au tendința de a trece în săruri, preluând din corp ionii metalici corespunzători.

HALOGENII

Fluorul, F_2

Etiologia intoxicațiilor. Majoritatea intoxicațiilor au loc cu F_2 și, în special, cu HF, deoarece F_2 trece în HF în prezența vaporilor de apă. Sau semnalat cazuri de intoxicații voluntare (crime) și accidente (confuzie), facilitate de lipsa de culoare și miros a fluorurilor.

Majoritatea intoxicațiilor sunt însă profesionale (la prepararea și utilizarea fluorului și a compușilor săi) și hidrotelurice (prin apă potabilă, legume, etc. provenite din soluri bogate în minereuri de fluor).

Toxicocinetică. Fluorul pătrunde în organism pe cale respiratorie (gaz sau aerosoli) și digestiv (HF lichid, fluoruri, apă și alimente). După absorție, acesta se distribuie rapid. Majoritatea este depozitat în schelet și dinți sub formă de CaF_2. Din fluorul ingerat, 50% se elimină urinar ca atare.

Toxicodinamie. Se depozitează în schelet și în dinți în trei etape: fluorizare neînsoțită de modificări macro- sau microscopice (sub 2.500 ppm); pătarea oaselor fără alte modificări (2.500 - 5.000 ppm); anomalii osoase constând din suprafețe neregulate (5.000 - 6.000 ppm). Fluorul se combină cu acetatul din organism cu formare de fluoracetat, care cu citratul conduce la fluorcitrat, responsabil de "sinteza letală". Fluorul spoliază organismul în calciu prin formarea CaF_2 nedisociabilă, determinând perturbări în coagularea sângelui, tetanie, dereglarea raportului Ca/K,. de asemenea, leagă Fe și Mg și implicit inhibă enzimele care necesită aceste metale. Fluorul are și efect toxic direct asupra fibrei miocardice. Este iritant și corosiv pentru tegumente și mucoase. Dozele letale sunt: 15 g HF soluție, 5-10 g NaF, 1 g fluorsilicat de Na, 0,05-0,10 g fluoracetat.

Simptomatologie. Intoxicația acută prin inhalare se manifestă prin iritația mucoaselor respiratorii, a corneei, conjunctivei, constricție toracică, sufocare, cianoză. La ingerare, apar fenomenele degestive proprii ingerării acizilor corosivi. În ambele cazuri sunt prezente manifestările caracteristice.

Primul ajutor. Se aplica măsurile de la acizi corosivi. La ingerarea de fluoruri se procedează ca la acidul oxalic, deoarece antidotul este comun acestor toxici, şi anume sărurile solubile de calciu. La inhalare se evacuează victima din mediul toxic şi se menţine în repaus. Tegumentele (mucoasele) arse sunt spălate cu apă din abundenţă şi se aplică o pastă cu MgO (pentru tratarea unghiilor se procedează ca la acizi corozivi).

Profilaxie. În cazul fluorozei profesionale se iau precauţiile obişnuite. În cazul fluorozei endemice se supraveghează conţinutul în fluor al apei, ţinând seama că limita admisă de 1 mg F/litru apă este în funcţie de cantitatea de apă consumată şi de sensibilitatea individuală.

Analiza toxicologică. Fluorul se cercetează din aer (hârtia impregnată cu reactiv zirconiu-alizarinsulfonat de sodiu se decolorează), urină (direct sau după o prealabilă izolare şi precipitare ca BaF_2 cu H_2SO_4). Dozarea se bazează pe decolarea unor indicatori metalorganici, ca zirconiu-alizarin-sulfonat, sau indirect, prin formarea complexului nedisociabil al fluorului cu Fe şi dozarea excesului de Fe ca sulfocianură ferică.

Clorul, Cl_2

Etiologia intoxicaţiilor. Majoritatea intoxicaţiilor sunt profesionale, uneori însă şi acidentale, prin utilizarea substanţelor generatoare de clor în uz casnic.

Toxicocinetică. Clorul gazos este un toxic de contact, care reacţionează direct cu ţesuturile, pe care le lezează. Clorul pătrunde în organism pe cale respiratorie şi determină un ritm respirator neregulat,

constituind fenomenul de sufocare. La nivel bronşic şi alveolar, clorul se dizolvă în lipidele tisulare şi, fiind avid de hidrogen, distruge substanţele organice, cu formare de HCl.

Toxicodinamie. În contact cu mucoasele căilor respiratorii superioare determină inhibiţie respiratorie reflexă, ca urmare a excitaţiei periferice a trigemenului, cu micşorarea concomitentă a schimburilor gazoase tisulare (scăderea concentraţiei de de O_2 şi a eliminării de CO_2 prin acumulare în ţesuturi). Depăşind bariera glotică clorul provoacă o expirare bruscă, urmată de polipnee reflexă. Iritarea concomitentă a căilor respiratorii superioare (cu oprirea respiraţiei) şi a celor inferioare (cu accelerarea respiraţiei) determină un ritm respirator neregulat, constituind fenomenul de sufocare. La nivel bronşic şi alveolar, clorul se dizolvă în lipidele tisulare şi, fiind avid de hidrogen, distruge substanţele organice, cu formare de HCl. De asemenea, clorul formează HCl şi HOCl cu apa tisulară. Aceste substanţe caustice şi oxidante acţionează local, determinând edem pulmon · acut lezional — prin lezarea pereţilor alveolari — cu acumulare de lichid în interstiţiul pulmonar şi în lumenul alveolar.

Simptomatologie. În *intoxicaţia supraacută* moartea survine rapid prin sincopă respiratorie reflexă sau edem pulmonar grav.

Intoxicaţia acută debutează cu faza de iritaţie : tuse, sufocare, durere retrosternală, lăcrimare, anxietate, stare de prostraţie (încât victima nu poate părăsi locul accidentului). Urmează o fază de remisiune aparentă, corespunzând stabilirii unui echilibru, în care plămânul, deşi lezat, poate asigura o hematoză minimă. În fine, faza de edem pulmonar acut, cu angoasă, facies cenuşiu, polipnee, tuse cu expectoraţie spumoasă. Dacă tratamentul este prompt şi corect,

respirația se poate restabili, dar se pot ivi complicații pulmonare. Altfel, moartea survine prin asfixie.

Intoxicația subacută se manifestă cu astenie, tuse dispnee moderate. *Intoxicația cronică* se exprimă prin leziuni cutanate, tulburări respiratorii, digestive, oculare și dentare (determinate de HCl).

Primul ajutor. Intervenția de prim ajutor comportă extremă urgență:

— accidentatul va fi scos imediat din zona contaminată și dus într-o încăpere caldă și bine ventilată;

— îndepărtarea hainelor și decontaminarea tegumentelor cu apă și săpun;

— inhalarea imediată de nitrit de amil 1 fiolă (pe compresă); operația se repetă din 5 în 5 minute, cel mult 20 minute;

— se va evita asfixierea prin căderea limbii, resturi alimentare etc;

— în caz de stop respirator se face respirație artificială cu oxigen pur (este contraindicată respirația gură la gură), concomitent cu inhalarea de nitrit de amil 1 fiolă (pe compresă), care se repetă din 5 în 5 minute, cel mult 20-25 minute;

În intoxicația prin ingestie se va proceda astfel:

— inhalarea imediată de nitrit de amil o fiolă (pe compresă); operația se repetă din 5 în 5 minute, cel mult 25 minute;

— spălătură gastrică cu $KMnO_4$ 1/5000, H_2O_2 3% și $Na_2S_2O_3$ 1%;

— când spălătura gastrică nu este posibilă, se recomandă ingerarea de cantități mari din aceleași soluții, urmată de provocarea de vărsături;

— administrarea de purgative saline;

— oxigenoterapie;

— se va anunța medicul care va conduce mai departe tratamentul necesar.

Profilaxie. Persoanele care urmează să lucreze cu Cl_2 trebuie să fie instruite asupra pericolelor la care sunt expuse. În dotarea laboratorului sau a secției trebuie să existe suficiente aparate pentru protecția respirației. De asemenea, ventilația din laboratoarele sau încăperile de lucru trebuie să fie foarte eficace.

Analiză toxicologică. Clorul se cercetează din aer și apă. Identificarea se realizează cu: a) hârtii indicatoare impregnate cu KI + amidon (colorație albastră), fluoresceină + KBr în mediu alcalin (formarea tetrabromfluoresceinei, roșie), anilină + ortotolidină în mediu acid acetic (colorație albastră); b) recoltare în soluții absobante: soluția de ortotolidină se colorează în galben (reacția Bâhovscaia), soluția de anilină în mediu alcalin se colorează în roșu-violet (reacția movein '), soluția de anilină + fenol se colorează în albastru. Dozarea Cl^- se realizează cu ortotolidină sau cu o soluție absorbantă conținând arsenit, KI, $K_2Cr_2O_7$ și amidon. Dozarea clorului se efectuează și prin reacția dintre Cl^- și sulfocianură mercurică, cu formarea tetracloromercuriatului și SCN (dozat cu sulfocianură ferică).

Bromul, Br_2

Bromul este un lichid volatil, fumigant, de culoare roșu închis, cu miros sufocant, foarte solubil în C_2H_5OH, $CHCl_3$. Acesta poate genera intoxicații - cazuri rare - la manipularea și utilizarea lui, în industrie și laboratoare. Se folosește ca agent de bromurare și oxidare, pentru

prepararea unor derivați, ca decolorant sau pentru purificarea apelor fiind bactericid. Pătrunde în organism respirator și digestiv, posibil și transcutanat. Provoacă arsuri profunde pe piele care se vindecă greu. Expunerea la concentrații mici de Br_2 este urmată de tuse, secreție mucoasă abundentă, dificultate în respirație, vertij, dureri de cap și iritație puternică a ochilor. În organism se transformă în Br^- și sub această formă se elimină renal. Bromul este iritant-caustic local, iar absorbit, deplasează clorul, determinând tulburări nervoase. La inhalarea de vapori apar fenomene iritativ-sufocante (prin același mecanism ca la clor), cu spasm glotic și iritație puternică a mucoasei oculare. Ingerarea determină eroziuni grave pe tractul digestiv. Contactul cutanat produce eritem, vezicule, ulcerații profunde, greu vindecabile. Intoxicația cronică se manifestă prin leziuni cutanate, conjunctivite, gingivite, stomatite și coloratia galbenă a fanerelor.

Doza letală (ingerare) < 1 ml brom.

Măsuri de protecție. Manipularea Br_2 se va face cu atenție și numai sub nișe cu tiraj eficient. Transportul se realizează în vase speciale, instalația de lucru trebuie să fie perfect etanșă, și se utilizează mănuși de laborator, ochelari, și, după caz, mască de protecție.

Primul ajutor în cazul în cazul inhalării constă în evacuarea din mediul toxic, oxigenoterapie, repaus absolut, aerosoli de tiosulfat. La ingerare se administrează oral apă (preferabil însă suspensie de MgO sau soluție de amidon) și se provoacă vărsături. Tegumentele arse se spală abundent cu apă, apoi cu tiosulfat de sodiu soluție 10 %. Vaporii de Br_2 în concentrație ridicată determină leziuni corozive ale membranelor mucoase nasofaringiene, ale căilor respiratorii, precum și arsuri chimice fatale ale plămânilor.

Concentrațiile în aer de 3-6 mg Br_2/m^3 sunt suportate fără mască de protecție, Sufocarea se produce la 11-23 mg Br_2/m^3, la 30-60 mg Br_2/m^3 apar fenomene toxice grave, iar la 220 mg Br_2/m^3 se produce decesul într-un interval scurt. Ingestia de cantități mici de Br_2 provoacă stomatită esofagică, gastrită și enterită hemoragică.

Recomandări medicale:

— se scoate imediat intoxicatul din atmosfera toxică;

— tegumentele arse se spală cu multă apă, apoi cu $Na_2S_2O_3$ soluție 10%;

— stropirea ochilor cu Br_2 solicită spălarea lor urgentă cu multă apă, apoi cu o soluție de H_3BO_3; se recomandă, de asemenea, instilații cu cocaină 2%;

— instilare sau pulverizare în căile superioare de soluție de $Na_2S_2O_3$ 1% sau de bicarbonat de sodiu 1%;

— se face gargară cu aceleași produse;

— la ingerare se administrează oral suspensie de oxid de magneziu sau soluție de amidon și se provoacă vărsături;

— oxigenoterapie;

— se va anunța medicul.

Analiza toxicologică. Bromul se cercetează: din aer (ca la clor, cu hârtii indicator impregnate cu KI și amidon cu formarea unei colorații albastre); din organe, se deplasează bromul cu un curent de aer, iar vaporii sunt captați în KI + amidon (colorație albastră) sau în soluție de fenol 2 % (opalescență albă de tribromfenol); deoarece o parte din Br_2 trece în Br^-, organele se tratează cu soluție de KOH, se evaporă la sec și se mineralizează; în reziduu se cercetează bromul cu soluție de ortotolidină, KI + amidon, fluoresceină (formarea eozinei, culoare roșie), roșu de fenol (formarea albastrului de fenol). Colorează

fucsina în roşu. Dozarea se efectuează spectrofotometric, prin una din reacţiile de mai sus. Dozarea presupune titrare argentometrică şi gravimetrică sub formă de AgBr. Dozarea se poate face şi prin reacţia cu KI, titrând iodul eliberat cu $Na_2S_2O_3$.

Iodul, I_2

Intoxicaţiile generate de iod pot fi accidentale (prin confuzie), voluntare (sinucideri cu tinctură de iod), medicamentoase (hipersensibilitate), profesionale (iodism). În stare de vapori pătrunde pătrunde în organism respirator, iar ca tinctură (sau soluţii apoase), digestiv. După absorbţie este acumulat în mare parte în glanda tiroidă. Se elimină urinar ca ioduri. Acţiunea vaporilor este asemănătoare celor de brom şi clor; sunt însă mai iritanţi. Iodul irită şi tegumentele, iar prin ingerare este methemoglobinizant. Doza letală (ingerare) este de 0,5 – 2 g iod şi 10 – 30 ml tinctură de iod.

Inhalarea de vapori determină - în raport cu concentraţia - de la iritaţia cutaneo-mucoasă până la edem pulmonar acut. La ingerare de tinctură de iod apare gust metalic, apoi arsuri în gură, vărsături, diaree. Contactul cutanat (cristale sau soluţii concentrate) determină arsuri chimice (asemănătoare celor termice), greu vindecabile. Hipersensibilitatea la ioduri alcaline se exprimă prin stare febrilă, tahicardie, tulburări digestive, iar la substanţele de contrast, prin anxietate, frisoane sau chiar stare de şoc. Intoxicaţiile cronice (iodism) sunt caracterizate prin rinite, bronşite, agitaţie psihomotorie, eritem.

Primul ajutor în cazul inhalării constă din evacuare din mediul toxic, oxigenoterapie, repaus absolut, aerosoli cu tiosulfat. La ingerare se administrează oral mari cantităţi de amidon, apoi spălătură gastrică

cu tiosulfat de sodiu 1 %, câte 300 ml; se evacuează şi se repetă până la dispariţia culorii albăstrui a amidonului ingerat. Tegumentele arse se spală abundent cu apă, apoi cu tiosulfat soluţie 10 %.

Analiză toxicologică. Iodul se cercetează din aer (ca la clor) şi medii biologice (prin antrenare de vapori de apă sau prin mineralizare). Identificarea se realizează cu soluţie de amidon sau prin formare de AgI, iar dozarea, prin dizolvare în $CHCl_3$ (coloraţie violetă, colorimetrabilă).

5. ACIDUL CIANHIDRIC

Izolare. Acidul cianhidric se izolează din aer prin reţinere în soluţii absorbante, iar din produse biologice şi alte produse, prin distilare în mediu slab acid.

Identificare. Depistarea mirosului de migdale amare, procedeul nu este recomandat, fiind riscant. Reactii preliminare: identificare din aer, conţinut stomacal, organe, sânge.

Se execută cu ajutorul hârtiilor indicatoare; în cazul organelor (conţinutului stomacal), hârtiile se suspendă de capacul recipientelor în care se găsesc produsele, având grijă să nu vină în contact cu acestea.

a) Reacţia Schönbein: hârtia îmbibată cu sulfat de cupru 0,05%, apoi cu guaiac 4% în alcool, se colorează în albastru în prezenţa acidului cianhidric. Reactia se bazează pe proprietatea acidului cianhidric de a exalta potenţialul oxidant al cuprului, care

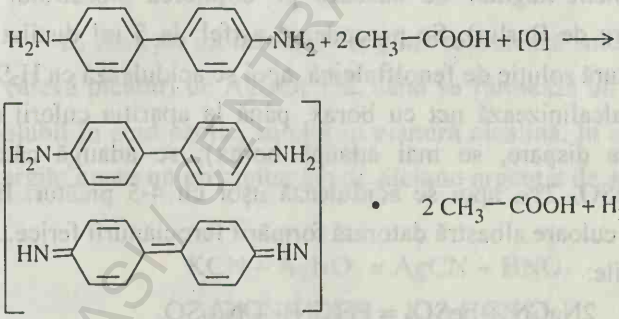
singur nu oxidează guaiacul, dar in prezența acidului cianhidric îl oxidează la azonidă guaiaconică, după reacțiile:

$$CuSO_4 + 2HCN = Cu(CN)_2 + H_2SO_4$$
$$2Cu(CN)_2 + H_2O = Cu_2(CN)_2 + 2HCN + [O]$$

Reacția este sensibilă (1/300 000). Aproape instantanee, dar nespecifică, fiind dată şi de substanțele oxidante (clor, ozon, etc).

b) Reacția Gastaldi: hârtia îmbibată cu acetat de cupru 0,28% şi apoi cu acetat de benzidină 0,5%, se colorează în albastru în prezența acidului cianhidric. Reacția se bazează pe o dismutație cu formare de oxigen în stare născândă, care oxidează benzidina la produsul merichinoidic, albastru:

$$Cu(CH_3{-}COO)_2 + 2HCN = Cu(CN)_2 + 2\ CH_3{-}COOH$$

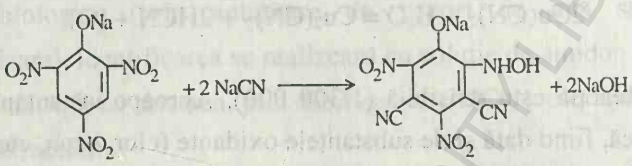


$$2Cu(CN)_2 + H_2O = Cu_2(CN)_2 + 2HCN + [O]$$

Reacția este sensibilă, dar nespecifică.

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

c) *Reacția Guignard*: hârtia îmbibată cu acid picric 1%, uscată, apoi tratată cu Na_2CO_3 5% şi uscată la temperatura camerei. În prezența acidului cianhidric, hârtia se înroşeşte prin formarea izopurpuratului, conform reacției:



Reacția este specifică, sensibilă, dar se desfăşoară lent. Sensibilitatea sa a fost mărită prin încălzirea amestecului pe baia de apă, realizându-se o metodă de determinare selectivă şi specifică a cianurilor.

Reacții pe distilat

a) *Reacția Guignard* (v. mai sus).

b) *Reacția Chelle-Regnier* se bazează pe obținerea albastrului de Prusia (albastru de Berlin). Se procedează astfel: la 5 ml distilat se adaugă o picătură soluție de fenolftaleină, apoi se acidulează cu H_2SO_4 0,1N şi se realcalinizează net cu borax, până la apariția culorii roz (dacă culoarea dispare, se mai adaugă borax); se adaugă câteva picături de $FeSO_4$ 2%, apoi se acidulează uşor cu 4-5 picături HCl conc. Apare o culoare albastră datorată formării ferocianurii ferice. Au loc sunt reacțiile:

$$2NaCN + FeSO_4 = Fe(CN)_2 + Na_2SO_4$$

$$Fe(CN)_2 + 4NaCN = Na_4[Fe(CN)_6]$$

$$6FeSO_4 + 3/2O_2 + 3H_2O = 2Fe(SO_4)_3 + 2Fe(OH)_3$$

$$3Na_4[Fe(CN)_6] + 2Fe(SO_4)_3 = Fe_4[Fe(CN)_6]_3 + 6Na_2SO_4$$

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Sensibilitatea reacției este de 1/100 000. Pentru a mări sensibilitatea, se adaugă o picătură $BaCl_2$, când se formează $BaSO_4$, care se depune și antrenează colorantul albastru de Prusia (de Berlin).

Reacția s-ar putea executa și cu $FeCl_3$, însă excesul de $FeCl_3$ conferă soluției o culoare galbenă, care ar masca culoarea verzuie a concentrațiilor mici de albastru de Berlin.

c) *Reacția Liebig* (formare de sulfocianură ferică): încălzind la fierbere soluția de analizat cu câteva picături de polisulfură de amoniu 10%, se formează sulfocianura de amoniu. Se acidulează cu acid clorhidric pentru distrugerea excesului de polisulfură, se filtrează și se tratează cu $FeCl_3$ 1% (soluție proaspăt preparată), când apare o colorație roșie datorită sulfocianurii ferice. Reacția este specifică:

$$CN^- + (NH_4)_2S_2 \longrightarrow SCN^- + (NH_4)_2S$$

$$3\,SCN^- + Fe^{3+} \longrightarrow Fe(SCN)_3$$

d) *Reacția cu azotat de argint*: se tratează soluția de analizat cu câteva picături de $AgNO_3$ 1%, când se formează un precipitat alb, insolubil în acid azotic, solubil în cianură alcalină. În exces de azotat de argint apare un precipitat alb de diciano argentat de argint:

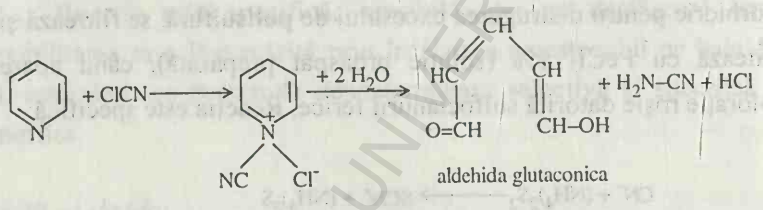
$$KCN + AgNO_3 = AgCN + HNO_3$$

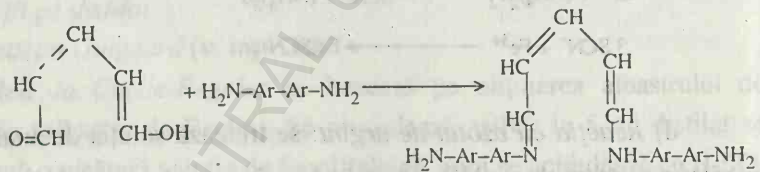
$$AgCN + KCN = K[Ag(CN)_2]$$

$$K[Ag(CN)_2] + AgNO_3 = Ag[Ag(CN)_2] + KNO_3$$

e) *Reacția Dénigés* (cu azotat de argint și iodură de potasiu): ionul CN^- formează cu $AgNO_3$, AgCN solubilă în amoniac, iar excesul de $AgNO_3$ reacționează cu KI dând AgI galbenă, insolubilă în amoniac.

$$KCN + AgNO_3 = AgCN + HNO_3$$
$$AgCN + 2NH_3 = [Ag(NH_3)_2]CN$$
$$KI + AgNO_3 = AgI + KNO_3$$





f) *Reacția de formare a bromurii* (clorurii) de cianogen: ionul CN^- formează cu apa de brom (clor), bromură (clorură) de cianogen. Aceasta se combină cu nucleul piridinic, deschizându-l, cu formare de aldehidă glutaconică, care se cuplează cu diamine aromatice (de exemplu: benzidina), obținându-se baza Schiff, roșie (tehnica Truhaut) sau cu antipirina dimetilată, dând culoare albastră (tehnica Epstein).

BCU "AS" CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Dozarea spectrofotometrică a acidului cianhidric din aer

Principiul metodei (metoda Chelle-Regnier): Ionul cianură reacționează cu sulfatul feros cu formare de ferocianură de potasiu, care tratată cu o sare ferică formează albastrul de Berlin, colorimetrabil. Reacția este specifică acidului cianhidric.

Reactivi

R_1 Soluție absorbantă NaOH, 0,1N;

R_2 Soluție alcoolică de fenolftaleină 1%;

R_3 Acid sulfuric 0,1N;

R_4 Soluție saturată de borax: se dizolvă prin încălzire 5 g borax în 100 ml apă distilată;

R_5 Soluție sulfat feros 2 % (cu câteva picături de clorură ferică 2%);

R_6 Acid clorhidric concentrat;

R_7 Standard stoc: se dizolvă 0,1 g KCN în 100 ml NaOH 0,1 N. Se titrează argentometric sau iodometric şi se stabileşte concentrația exactă în CN^-; 10 ml soluție standard stoc se tratează cu 5 ml iodură de potasiu 20 % şi se titrează cu azotat de argint 0,01 N până la apariția unei opalescențe alb-gălbui dată de iodura de argint:

1 ml $AgNO_3$ 0,01 N corespunde la 0,52 mg CN^-

R_8 Standard de lucru: se diluează cu NaOH 0,1 N o parte alicotă din standardul stoc, astfel încât soluția să conțină 100 μg CN^-/ml. Soluția se prepară extemporaneu.

Recoltarea probelor

Se aspiră 40-50 litri de aer, cu un debit de 25 l/oră, prin două vase spălătoare, conținând fiecare câte 10 ml NaOH 0,1 N.

Modul de lucru

Eprubeta Reactivi (ml)	1	2	3	4	5	6 (M)
Standard de lucru						
(100 μg CN^-/ml)	0,7	0,	1,1	1,3	1,5	-
Conc (μg)	70	9	110	130	150	-
NaOH 0,1 N	4,3	9	3,9	3,7	3,5	5,0
Fenolftaleină 1%		0	1 pic.			2,0
H_2SO_4 0,1 N		4,	5,0			
Borax, soluție saturată		1	2,0			
Agitare 5-10 min, repaus			1,0			
$FeSO_4$ 2%						
Agitare			6 pic.			
HCl						
Agitare, 10 min repaus						
Citire λ = 720 nm						

Se iau câte 5 ml soluție absorbantă din fiecare vas spălător, se tratează cu o picătură de fenolftaleină 1 % când apare o culoare roşu-vişinie, apoi se adaugă 5 ml acid sulfuric 0,1 N când soluția se decolorează (la nevoie se adaugă 2-3 picături în plus). Se realcalinizează net cu 2 ml soluție saturată de borax, când apare o culoare roz-vişinie, se agită şi se lasă 5-10 minute în repaus. Se adaugă 1 ml sulfat feros 2 % când se formează un precipitat galben-verzui, apoi se adaugă 6 picături HCl conc., se agită până la dizolvarea precipitatului şi apariția unei

BCU "I. CENTRAL UNIVERSITAR LIBRARY

coloraţii albastre. După 10 minute se măsoară extincţia la spectrofotometrul Spekol la $\lambda = 720$ nm, în cuva de 1 cm în compensaţie cu proba martor.

Curba de etalonare se trasează între 70 şi 150 μg ioni CN^-, prin puncte din 20 în 20, în condiţiile descrise mai sus.

Cu extincţiile obţinute se construieşte curba standard sau se calculează factorul de pantă.

Valorile extincţiilor pentru probe se raportează la curba standard, apoi se înmulţesc cu 2 (pentru că s-a lucrat cu ½ din soluţia absorbantă), obţinându-se concentraţia C a CN^- în μg.

Calcul

$$\text{mg } CN^-/\text{mc aer} = C/V$$

în care:

C = μg CN^- din proba de analizat;

V = volumul de aer recoltat, exprimat în litri.

Normele republicane în vigoare prevăd pentru HCN, CMA = 1 mg/mc aer.

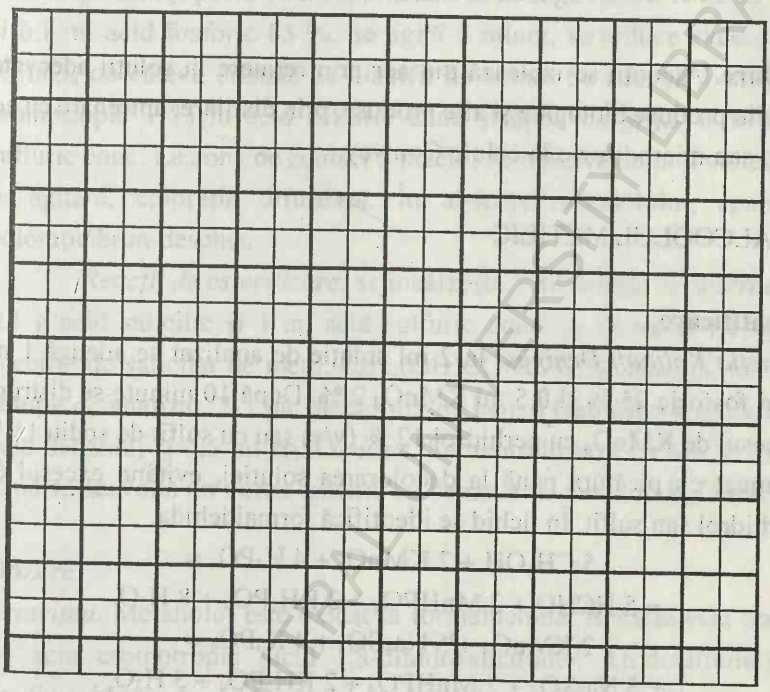
BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Observațiile studenților.

Calcule.

Rezultatele analizelor.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY



BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

6. DETERMINAREA ALCOOLILOR

Izolare. Alcoolii se izolează din aer prin reținere în soluții adecvate, iar din produse biologice și alte produse, prin distilare, antrenare cu aer cald sau microdifuzie în celule Conway.

A. ALCOOLUL METILIC

Identificare

Reacția Kolthoff-Denigès: la 2 ml soluție de analizat se adaugă 1 ml acid fosforic 25 % și 0,5 ml $KMnO_4$ 2 %. După 10 minute se distruge excesul de $KMnO_4$ cu perhidrol 12 % (v/v) sau cu sulfit de sodiu 15 % adăugat cu picătura până la decolorarea soluției, evitând excesul de perhidrol sau sulfit. În lichid se identifică formaldehida.

$$5\ CH_3OH + 2\ KMnO_4 + 4\ H_3PO_4 =$$
$$= 5\ HCHO + 2\ MnHPO_4 + 2\ KH_2PO_4 + 8\ H_2O$$
$$2\ KMnO_4 + 5\ Na_2SO_3 + 4\ H_3PO_4 =$$
$$= 5\ Na_2SO_4 + 2\ MnHPO_4 + 2\ KH_2PO_4 + 3\ H_2O$$

În cazul prezenței concomitente a formaldehidei, aceasta se îndepărtează astfel: se tratează 10 ml soluție de analizat cu 5 ml $AgNO_3$ 10 % și 5 ml NaOH 30 %. Se încălzește cu refrigerent ascendent timp de 10 minute și se distilă. Formaldehida se oxidează la acid formic, care nu distilă și, concomitent, Ag_2O se reduce la Ag metalic (oglindă de argint):

$$AgNO_3 + NaOH = AgOH + NaNO_3$$
$$2\ AgOH = Ag_2O + H_2O$$
$$HCHO + Ag_2O = HCOOH + 2\ Ag$$

În cazul identificării metanolului în sânge se procedează astfel: se tratează 2 ml sânge cu 2 ml acid tricloracetic 20 %, se centrifughează şi peste 1 ml supernatant se adaugă 0,2 ml $KMnO_4$ 1 % şi 0,1 ml acid fosforic 85 %. Se agită 1 minut, se reduce excesul de $KMnO_4$ cu câteva cristale de bisulfit de sodiu. Se adaugă 1 ml acid cromotropic 1 % în acid sulfuric conc şi apoi, cu grijă, 1 ml acid sulfuric conc. La zona de contact a fazelor se observă un inel violet, iar la agitare, coloraţia difuzează. În absenţa metanolului, apare o coloraţie brun-deschis.

Reacţii de esterificare: se încălzeşte 1 ml soluţia de analizat cu 0,1 g acid salicilic şi 1 ml acid sulfuric conc; se dezvoltă un miros specific de salicilat de metil, $C_6H_4(OH)COOCH_3$. Se adaugă, la 2 ml soluţie de analizat, 2-3 pic de clorură de benzil (sau câteva cristale de acid benzoic) şi 0,5 ml H_2SO_4 conc. Se neutralizează cu NaOH 20 % când se dezvoltă un miros specific cu benzoat de metil, $C_6H_5COOCH_3$.

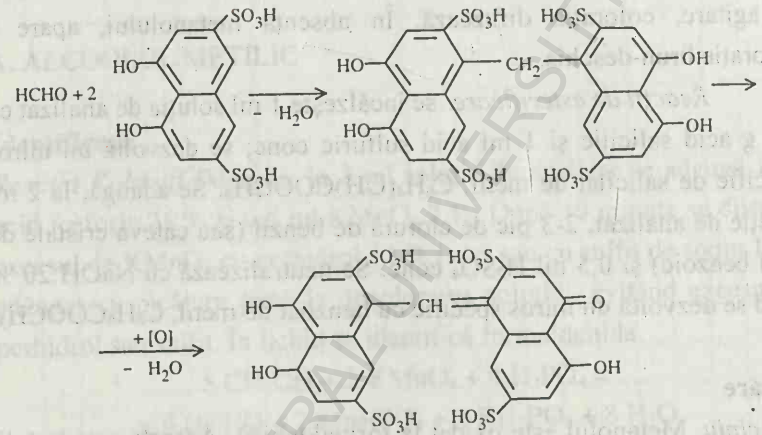
Dozare

Principiu. Metanolul este oxidat la formaldehidă. Aceasta este tratată cu acid cromotropic (acid 1,8-dihidroxinaftalen 3,6-disulfonic) în mediu acid, când se obţine un compus violet, colorimetrabil:

Reactivi

1. Soluţie absorbantă : apă distilată.
2. Permanganat de potasiu, sol 2 %.
3. Acid fosforic 50 %.
4. Soluţie sulfit de sodiu, sol saturată.
5. Acid cromotropic, sol 5 % proaspăt preparată. În momentul întrebuinţării se diluează 5 ml la 100 ml acid sulfuric 15 N.
6. Acid sulfuric 9 M.

7. Soluție etalon de metanol: se cântărește un balon cotat de 50 ml conținând cca 15 ml apă, se introduc 4-5 pic metanol pur și se recântărește; diferența reprezintă cantitatea de metanol. Se aduce la semn cu apă. Se prepară o soluție etalon, astfel ca soluția să conțină 1 ml = 0,1 mg = 100 μg. Sensibilitatea reacției este de 1 μg/ml.



Recoltarea probelor

Se aspiră minimum 1 litru aer, cu un debit de 0,2 litri/min, printr-un microabsorber conținând 2 ml apă distilată. Se folosesc și microabsorbere martor.

Modul de lucru

Se transvazează cantitativ conținutul microabsorberului într-o eprubetă gradată de 10 ml. Se adaugă 1 ml permanganat și 0,5 ml acid

fosforic. Se lasă în repaos 15 min, se decolorează excesul de permanganat cu sulfit, evitând excesul, apoi se adaugă 5 ml acid cromotropic, agitând şi răcind la robinet. Se aduce proba în baia de apă la fierbere, menţinând-o 30 min. Se răceşte şi se completează la 10 ml cu acid sulfuric 9 M.

În paralel se prelucrează şi probele martor.

Se măsoară extincţia probelor la $\lambda = 580$ nm în cuva de 1 cm faţă de proba martor.

Curba de etalonare se trasează între 20 şi 100 μg, prin puncte din 20 în 20, în condiţiile descrise mai sus. Se calculează factorul de pantă mediu şi apoi conc probei în μg.

Eprubeta / Reactivi (ml)	1	2	3	4	5	6 (M)
Standard de lucru (100 μg/ml)	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	-
Conc (μg)	20	40	60	80	100	-
Apă distilată	0,8	1,6	1,4	1,2	1,0	2,0
ReKMnO$_4$ 2 %, 1,0 ml se agită						
H$_3$PO$_4$ 5 %, 0,5 ml, se agită, 15 min repaos						
Na$_2$SO$_3$ sol sat, pic cu pic până la decolorare						
Acid cromotropic, 5,0 ml, se menţin eprubetele 30 min în BM în fierbere, se acesc imediat						
H$_2$SO$_4$ 9M, până la 10 ml						
Citire $\lambda = 580$ nm						

Calcul

Rezultatele se exprimă în mg metanol/mc aer:

mg metanol/mc aer = C/V,

în care C = conc în μg de metanol, iar V = vol aer recoltat, în litri.

Normele republicane în vigoare prevăd pentru alcoolul metilic CMA = 100 mg/mc aer.

B. ALCOOLUL ETILIC

Identificare

Reacția Lieben: se alcalinizează 2 ml soluție de analizat cu NaOH 10 % sau Na_2CO_3 10 %, se încălzește ușor și se adaugă soluție Lugol (4 g iod și 4 g KI la 100 ml apă) până la apariția culorii galben-portocalii. Se distruge excesul de iod cu NaOH 10 % sau Na_2CO_3 10 % când apare o opalescență și miros de iodoform, caracteristic, sau chiar pp galben cu forme caracteristice la microscop (la conc mari de etanol):

$$C_2H_5OH + I_2 + 2\ NaOH = CH_3CHO + 2\ NaI + 2\ H_2O$$

$$CH_3CHO + 3\ I_2 + 3\ NaOH = CI_3CHO + 3\ NaI + 3\ H_2O$$

$$CI_3CHO + NaOH = CHI_3 + HCOONa$$

Reacția este sensibilă dar nespecifică, fiind dată și de acetonă și metiletilcetonă, precum și de acetaldehidă. Diferențierea cetonelor de etanol și acetaldehidă se realizează, dacă soluția de analizat este alcalinizată cu amoniac în loc de NaOH, după care se adaugă soluția Lugol. În prezența etanolului și a acetaldehidei apare un pp cenușiu-negru de iodură de azot, pe când acetona, în aceleași condiții, dezvoltă miros de iodoform.

Reacția xantogenaților: la 2 ml soluție de analizat se adaugă o granulă de KOH se agită și se încălzește ușor, se acidulează slab cu

$$2\ C_2H_5OK + 2\ CS_2 \longrightarrow 2\ C_2H_5\text{-O-C(=S)-SK} \xrightarrow{CuSO_4} (C_2H_5\text{-O-C(=S)-S})_2Cu$$

(negru)

$$2\ (C_2H_5\text{-O-C(=S)-S})_2Cu \longrightarrow (C_2H_5\text{-O-C(=S)-S-Cu})_2 + (C_2H_5\text{-O-C(=S)-S})_2$$

(galben)

acid acetic 1 %, se adaugă câteva pic de sulfură de carbon şi 2-5 pic sulfat de cupru 5 %. Se formează iniţial un pp negru de xantogenat cupric, care trece prin dismutaţie în xantogenat cupros, galben.

Reducerea bicromatului: se tratează 2 ml soluţie de analizat cu câteva pic $K_2Cr_2O_7$ 5 % şi 1 ml H_2SO_4 conc, când se dezvoltă o culoare verde (Cr^{3+}), iar etanolul se oxidează, în funcţie de condiţiile de reacţie, la acetaldehidă sau acid acetic.

– la rece:

$$3\ CH_3CH_2OH + K_2Cr_2O_7 + 4\ H_2SO_4 = 3\ CH_3CHO + Cr_2(SO_4)_3 + K_2SO_4 + 7\ H_2O$$

– la cald:

$$3\ CH_3CH_2OH + 2\ K_2Cr_2O_7 + 8\ H_2SO_4 = 3\ CH_3COOH + 2\ Cr_2(SO_4)_3 + 2\ K_2SO_4 + 11\ H_2O$$

Reacţia nu este specifică, fiind dată de toţi alcoolii, ca şi de alte substanţe organice şi substanţe reducătoare.

Dozare din aerul expirat, sânge, urină, organe

Se folosesc tuburi umplute cu silicagel impregnate cu bicromat de potasiu sau anhidridă cromică şi acid sulfuric – când se modifică culoarea de la galben (Cr^{6+}) la verde (Cr^{3+}), concomitent cu oxidarea etanolului la acetaldehidă – fie aparate speciale, de tipul Alcooltest, Breathanalyser etc., bazate pe reacţii chimice sau măsurători fizice (de ex absorbţie în I.R).

Metoda iodometrică (oficială) pt etanol din produse biologice (metoda Cordebard)

Principiu. Etanolul izolat din produsul biologic prin distilare, este oxidat, la rece, până la acid acetic, cu bicromat de potasiu, în mediu de acid azotic. Excesul de bicromat este titrat iodometric, în prezenţa amidonului sau a alcoolului polivinilic ca indicator.

$$3\ CH_3CH_2OH + 2\ K_2Cr_2O_7 + 16\ HNO_3 = 3\ CH_3COOH + 4\ Cr(NO_3)_3 + 4\ KNO_3 + 11\ H_2O$$

$$K_2Cr_2O_7 + 6\ KI + 14\ HNO_3 = 2\ Cr(NO_3)_3 + 8\ KNO_3 + 2\ I_2 + 7\ H_2O$$

$$I_2 + 2\ Na_2S_2O_3 = 2\ NaI + Na_2S_4O_6$$

Reactivi

1. Acid picric, soluție saturată. Se aduc într-o capsulă 20 g acid picric, se adaugă 1000 ml apă și se încălzește amestecul la ușoară fierbere, timp de 10-15 minute, apoi se răcește și se filtrează.

2. Acid succinic sau acid tartric, soluție 5 %;

3. Acid azotic d = 1,42 (lipsit substanțe reducătoare).

4. Iodură de potasiu, soluție 2 % proaspăt preparată. Se păstrează în sticle brune cu dop rodat.

5. Bicromat de potasiu, soluție N/6,9 (0,144). Se cântăresc exact 7,1065 g bicromat de potasiu pulverizat, în prealabil uscat la 125-150°C și se dizolvă în 1000 ml apă distilată. Soluția se conservă la întuneric. Din această soluție, 3 ml corespund la 10 ml bicromat de potasiu N/23 (0,0435) și oxidează 5 mg etanol.

6. Tiosulfat de sodiu, soluție N/23 (0,0435) N/23 (0,0435). Se dizolvă 11 g $Na_2S_2O_3 \cdot H_2O$ în apă distilată proaspăt fiartă și răcită, într-un balon cotat de 1000 ml, se adaugă 0,10 g carbonat de sodiu anhidru și se completează la semn cu apă. După câteva zile se determină titrul, care se verifică apoi săptămânal. Stabilirea titrului se face astfel: se iau 3 ml bicromat N/6,9, exact măsurați, se adaugă 5 ml apă distilată, 4 ml HNO_3 și 20 ml KI 2 %. Se astupă flaconul și, după 2-3 minute, se titrează iodul pus în libertate cu tiosulfat N/23

(indicator amidon sau alcool polivinilic). Factorul se calculează după formula:

$$F_{tiosulfat} = 10/n$$

în care:

10 = ml bicromat de potasiu N/23, corespunzând la 3 ml bicromat N/6,9;

n = ml tiosulfat N/23, folosiți la titrare

7. Indicator amidon 1 % sau alcool polivinilic 10 % (se dizolvă 10 g alcool polivinilic, lipsit de substanțe reducătoare, în 100 ml apă la fierbere; se continuă încălzirea, agitând, până la dizolvare completă, soluția se păstrează în flacoane bine închise, la rece).

Modul de lucru

Izolare din sânge: se aduc 5 ml sânge recoltat pe anticoagulant, exact măsurați, într-un balon de distilare de 300 ml, se adaugă 20 ml apă, 25 ml acid picric (sau 45 ml acid succinic) şi puțină piatră ponce. Se agită uşor şi se adaptează la o coloană de distilare Vigreux, care se continuă cu un refrigerent descendent, prevăjut cu o alonjă. Capătul alonjei se introduce într-un balon cotat de 25 ml, în care se găsesc 2-3 ml apă distilată. Se distilă până aproape la semn, apoi se completează cu apă la semn. Distilarea durează aprox. 25 min.

Izolare din urină: se aduc 5 ml urină într-un balon de distilare de 300 ml şi se procedează ca la sânge.

Izolare din organe: se cântăreşte repede o cantitate de organe, se mojarează cu nisip purificat şi se trece în balonul de distilare, reluând de câteva ori cu apă, se adaugă acid picric şi se continuă ca la sânge.

Dozarea (metoda Cordebard modificată): Într-un Erlenmeyer de 100 ml cu dop rodat, se iau 5 ml distilat (în cazul sângelui şi urinii, corespunde la 1 ml produs), se adaugă 3 ml bicromat de potasiu N/6,9 (măsuraţi cu microbiureta) şi 4 ml HNO_3 conc. Se acoperă balonul, se lasă în repaos *exact* 15 min, se adaugă 20 ml KI 2 %. După 2 minute se titrează iodul pus în libertate de excesul de bicromat, cu tiosulfat N/23, în prezenţa soluţiei de amidon sau de alcool polivinilic (ultimul virează de la roşu la incolor).

Calcul

1 ml bicromat N/23 = 0,0005 g etanol

g etanol/1000 ml sânge (urină) = (10-n)· 0,5 = (10-n)/2

în care:

10 = ml bicromat N/23 (la care corespund 3 ml bicromat N/6,9 şi care oxidează 5 mg etanol;

N = ml tiosulfat N/23 folosiţi la titrare.

Observaţii

1. Dacă distilatul conţine mai mult etanol decât ar putea oxida bicromatul, se ia în lucru un alicot mai mic.
2. Reactivii folosiţi sunt p.a. şi nu conţin subst. red.
3. Sângele nu trebuie să fie putrefiat. Altfel se obţin rezultate eronate. În cazul sângelui coagulat se lucrează cu ser, dar

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

rezultatele se împart la 1,2 deoarece etanolul este repartizat în cantitate mai mică în ser.

4. În condițiile metodei, metanolul este oxidat la rece numai în proporție de 15 %.
5. Se execută în dublu.
6. Pentru fiecare oră de întârziere în determinarea etanolului, se adaugă 0,15 % la rezultatul final. Nu se ține cont de primele două ore. Peste 7-8 ore de la recoltare, rezultatele sunt îndoielnice.

7. HIDROGENUL SULFURAT

Etiologia intoxicațiilor: sunt profesionale, mai rar accidentale și pot avea loc: la prepararea și întrebuințarea HS și a sulfurilor în industrie și laboratoare; la degajarea H_2S ca produs colateral în numeroase procese tehnologice; din apele reziduale acestor industrii; la degajarea H_2S în procesele de descompunere a substanțelor organice (canale, puțuri, latrine, mine de cărbuni). H_2S este un poluant major al atmosferei.

Proprietăți. Gaz incolor, d = 1,54 cu miros caracteristic, perceptibil la 0.03 ppm; anesteziază terminațiile nervoase olfactive, astfel încât la o expunere de durată, mirosul nu mai este perceptibil chiar la concentrații mari. Este solubil în apă, dând soluții slab acide; are caracter reducător.

Toxicocinetică. Hidrogenul sulfurat pătrunde, în principal respirator și accidental transcutant și digestiv (ca soluție). După

absorție, o parte disociază (HS^-), restul rămâne ca atare; forma nedisociată· străbate mai ușor membranele biologice. În ficat se oxidează sub acțiunea unor sulfoxidaze. De asemenea, poate fi inactivat de glutation (G-S—S-G) pe care-l reduce (G-SH). Eliminarea are loc pulmonar (H_2S) și renal (tiosulfat, sulfat, polisulfuri).

Toxicodinamie. Acțiunea toxică a H_2S se datorește inhibării enzimelor oxidoreducătoare și în special a citocromoxidazei, cu formarea unei combinații stabile cu Fe. De asemenea, H_2S reacționează cu MetHb cu formare de sulfmethemoglobină, din care apoi H_2S este eliberat treptat pentru a fi inactivat. Deoarece H_2S are mai mare afinitate pentru MetHb decât pentru citocromoxidază, s-a propus inducerea methemoglobinemiei cu ajutorul nitrilului, pentru ca MetHb să preia H_2S de la citocromoxidază, eliberând-o. Tot ca antidot s-ar putea folosi glutationul care activează H_2S datorită proprietății acestuia de a fi reducător. Acțiunea iritantă se datorește formării cu ionii alcalini tisulari, a sulfurilor alcaline caustice. Prin ingerare, soluția de H_2S este mai puțin toxică (se oxidează rapid). Concentrația letală este de 1 mg/litru aer.

Simptomatologie. În *intoxicația supraacută* moartea se produce aproape imediat, prin paralizie respiratorie sau cardiacă, precedată de pierderea stării de conștiență și convulsii. *Intoxicatia acută* debutează — la expunerea scurtă — prin keratoconjunctivită (prin afectarea structurilor polului anterior al globurilor oculari) cu fotofobie, lăcrimare, dureri. Apoi apar fenomenele iritative respiratorii (rinită, tuse, dureri retrosternale, dispnee — până la edem pulmonar acut), nervoase (cefalee, amețeli, somnolență — până la comă), digestive (salivație, grețuri, vărsături). În *intoxicația cronică* (după unii autori însă, H_2S nu ar avea toxicitate cronică) se observă tulburări

generale (astenie, anoraxie, pierdere ponderală) şi iritative (respiratorii şi oculare).

Primul ajutor. Evacuare, oxigenoterapie şi respiraţie artificială (procedeul "gură la gură" poate fi periculos pentru salvator). Se menţine intoxicatul în stare de repaus (risc de edem pulmonar tardiv). Antidot: nitrit de sodiu, 10 ml din soluţie 3 %, i.v. lent, repetat de încă două ori (deci în total 30 ml soluţie = 1 g nitrit), sau albastru de metilen, 5 ml din soluţie 1 % i.v. Primul ajutor pentru keratoconjunctivită constă din spălare cu multă apă a sacului conjunctival; instilare: o picătură de ulei comestibil, 2-3 picături de cocaină soluţie 1 % (la dureri mari) şi 3-4 picături de adrenalină soluţie 1/1000 (la hiperemie puternică).

Determinarea hidrogenului sulfurat

Izolare. Hidrogenul sulfurat se izolează din aer prin barbotare în soluţii absorbante.

Identificare

1. Hârtia de filtru îmbibată cu acetat de plumb se înegreşte în prezenţa H_2S cu formare de PbS.
2. Hârtia de filtru îmbibată cu acetat de cadmiu se îngălbeneşte în prezenţa H_2S când se formează CdS.
3. Hârtia de filtru iod-amidonată (albastră) este decolorată de H_2S în urma reducerii iodului la I^-.

$$H_2S + I_2 = 2\,HI + S$$

Dozare

Se utilizează metoda Stan şi colaboratorii:

Principiul metodei: Hidrogenul sulfuratreduce ionul Fe^{3+} la Fe^{2+}, iar acesta reacţionează cu α, α' – dipiridil formând un complex roşu care se determină spectrofotometric la 520 nm.

Reactivi

R_1 Soluţie apoasă 0,30% de sulfat dublu de fier (III) şi amoniu.

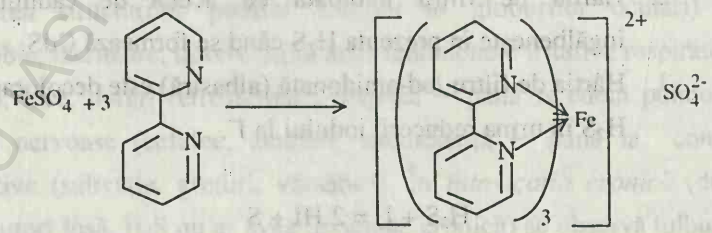
R_2 Soluţie α,α'-dipiridil 0,20%: 0,20 g α,α'-dipiridil se introduc într-un balon cotat de 100 ml, se adaugă 5 ml metanol şi se completează cu apă distilată la semn.

R_3 Soluţie absorbantă: 1 ml **R_1** se amestecă cu 2 ml **R_2** şi se adaugă 2 ml apă distilată.

R_4 Soluţie etalon: 0,2305 g sulfat dublu de fier (III) şi amoniu (sare Mohr) se aduce în balon cotat de 100 ml, se adaugă 3 picături acid sulfuric conc. şi se completează la semn cu apă distilată. Din această soluţie se iau 2 ml şi se completează cu apă distilată la 100 ml. 1 ml = 10 μg H_2S.

$$NH_4[Fe(SO_4)_2] + H_2S \longrightarrow 2\,FeSO4 + (NH_4)_2SO_4 + H_2SO_4 + S$$

$$2\,Fe^{3+} + S^{2-} \longrightarrow 2\,Fe^{2+} + S^{o}$$



BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Modul de lucru

Într-un microabsorbitor se aduc 5 ml soluție absorbantă (R_3) și se aspiră aerul de cercetat cu un debit de 0,5 litri/min., notându-se volumul de aer recoltat.

Recoltarea se face până la coloratie roșie vizibilă, este bine să se facă față de un etalon care conține 20-25 μg H_2S până când coloratia probei este aproximativ egală cu cea a etalonului.

Conținutul vasului de absorbție se aduce cantitativ într-o eprubetă gradata de 10 ml (prin spălături repetate cu cantități mici de apă) și apoi se completează cu apă distilată la 10 ml. Aceasta constituie proba de analizat.

Paralel cu pregătirea probei de analizat se prepară o scară etalon. În eprubete gradate de 20 ml se aduc: 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 ml soluție etalon, corespunzător concentrațiilor de 5, 10, 15, 20, 25 μg H_2S și apoi se completează cu apă distilată la 8,0 ml după care se adaugă în fiecare eprubetă câte 2,0 ml α, α'-dipiridil 0,2 %.

În același timp se prepară și un martor cu reactivii.

După un repaus de 15 minute se determină densitatea optică a probei de analizat și a scării etalon la 520 nm, în cuva de 1 cm, față de martor. Cu extincțiile scării etalon se trasează curba de etalonare.

Valoarea densității optice a probei de analizat se raportează l a curba de etalonare și se află cantitatea de H_2S.

BCU IAȘI CENTRALA UNIVERSITARĂ LIBRARY

Calcul:

mg H_2S/mc aer = C/V în care:

C = µg H_2S din proba de analizat;

V = volumul de aer recoltat, exprimat în litri.

Normele în vigoare prevăd pentru H_2S CMA = 15 mg/mc aer.

Eprubeta / Reactivi (ml)	1	2	3	4	5	6 (M)
Sol etalon (10 µg H_2S/ml)	0,5 5	1,0 10	1,5 15	2,0 20	2,5 25	- -
Conc (µg)	7,5	7,0	6,5	6,0	5,5	8,0
Apă distilată			2,0			2,0
α,α'-dipiridil 0,2% Agitare, 15 min repaus						
Citire λ = 520 nm						

8. DIOXIDUL DE SULF

Etiologia intoxicațiilor. Dioxidul de sulf poate determina intoxicații acute și cronice în condițiile de formare și preparare (arderea sulfului sau a minereurilor, a cărbunilor, prepararea H_2SO_4, reducerea sulfaților), precum și de întrebuințare (agent frigorific, conservant, decolorant, pesticid). SO_2 este un poluant major al atmosferei.

Proprietăți. Gaz incolor, d = 2,23, miros înțepător și sufocant, solubil în apă, cu caracter reducător. În anumite condiții atmosferice se oxidează la SO_3, care, cu vaporii de apă, trece în H_2SO_4; acesta rămâne în atmosferă ca aerosol, potențând toxocitatea SO_2.

Toxicocinetică. Dioxidul de sulf pătrunde în organism pe cale respiratorie (SO_2 gazos și /sau aerosoli de H_2SO_3) și digestiv (soluții de SO_3^{2-}). Se oxidează până la SO_4^{2-} și se elimină urinar ca SO_3^{2-} și SO_4^{2-}.

Toxicodinamie. Dioxidul de sulf este iritant datorită H_2SO_3 (format în contact cu mucoasele umede), și corosiv datorită H_2SO_4 (rezultat din oxidarea parțială a SO_2 la SO_3 care cu apă trece în H_2SO_4). După absorbție, SO_2 determină acidoză metabolică; scade rezerva alcalină din sânge și, compensator, se elimină urinar amoniac. SO_2 este un toxic celular, provocând perturbări în metabolismele intermediare, prin inhibarea unor enzime și spolierea organismului în vitaminele B și C. De asemenea, deprimă hematopoieza (în doze mari) și poate produce methemoglobinemie. Concentrația letală este de 1,5 mg SO_2/litru aer și doza letală 10 - 20 g sulfit.

Simptomatologie. Intoxicația acută are loc de obicei datorită unor avarii. La inhalare se observă — în raport cu concentrația și timpul de expunere — iritația căilor respiratorii, a mucoasei nazale, a conjuctivitei, apoi sufocare, disfonie (prin spasm laringian), tulburări de deglutiție (prin spasm faringian), dispnee, cianoză, blefaroconjunctivită cu palpebral, leziuni cutanate. La concentrații mari și expunere prelungită se observă confuzie mintală, halucinații, comă. La cantități mari, efectul este caustic. *Intoxicația cronică* se exprimă prin fenomene iritative (rinofaringită cronică, tuse, dispnee de

efort, stomatită, conjunctivită) şi astenovegetative. În prezenţa aerosolilor de H_2SO_3 se observă şi carii dentare.

Primul ajutor. După evacuarea din mediul toxic se menţine intoxicatul în repaus. Se tratează leziunile oculare prin spălare cu soluţie de bicarbonat 2 % şi leziunile mucoasei nazale prin instalare a 2-3 picături de efedrină soluţie 2 %.

Analiză toxicologică. Dioxidul de sulf se cercetează din aer cu ajutorul hârtiilor indicatoare (HIO + amidon - colorație albastră; I_2 + amidon - decolorare; nitroprusiat de sodiu + ZnSO - colorație roz). Dozarea se efecuează nefelometric (SO_2 este oxidat la H_2SO_4 şi trecut în $BaSO_4$) sau spectrofotometric (SO_2 cu Na_2HgCl_4 dă complexul $Na_2[Hg(SO_3)_2]$, care cu pararozanilina + CH_2O formează un compus trifenilmetanic, roz, colorimetrabil).

9. AMONIACUL

Etiologia intoxicaţiilor. Amoniacul este un gaz incolor, cu gust arzător, miros caracteristic înţepător şi sufocant. Inhalarea de NH_3 gazos, ingerarea de NH_3 soluţie, stropirea cu NH_3 lichid sunt de obicei accidentale şi au loc în special în mediul industrial, dar uneori şi în mediul casnic. Riscul toxic există la: degajarea în atmosferă a mari cantităţi de NH_3 (industria frigorifică, tăbăcării), sinteza NH_3 şi utilizările sale (prepararea Na_2CO_3, a sărurilor de amoniu, sinteza HNO_3 etc.), ingerare de amoniac soluţie (confuzie, suicid). În atmosferă se găseşte NH_3 rezultat din putrefacţii. Concentraţia maximă admisibilă este de 30 mg/m^3 de aer.

Proprietăți. Este un gaz incolor, d = 0,771, cu miros înțepător, solubil în apă (NH_4OH), ușor lichefiabil. La 0°C solubilitatea amoniacului este de 900 g /l.

Toxicocinetică. După pătrundere în organism, respirator, digestiv sau transcutanat, NH_3 se dizolvă în țesuturile cu care vine în contact cu formare de NH_4OH, caustic. Absorția este redusă. Parțial este neutralizat de H_2CO_3.

Toxicodinamie. Sub formă gazoasă NH_3 este iritant și caustic pentru mucoasele căilor respiratorii superioare (de la hiperemie la necroză), membrana alveolocapilară (edem pulmonar acut lezionar) conjunctive și cornee (ulcerații), tegumente (arsuri). Sub formă de soluții (NH_4OH) se comportă ca alcaliile. Doza letală (ingerare) este de 10 ml NH_4OH. Concentrația letală (inhalare): 3 mg NH_3/litru aer (5.000 ppm).

Simptomatologie. Intoxicația supraacută cunoaște o evoluție rapidă cu moarte prin asfixie. În *intoxicație acută* (forma gravă) se disting: faza inițială, de edem pulmonar acut și insuficiență cardiovasculară acută; faza de remisiune (aparentă), când radiologic apar semne de pneumopatie acută corespunzând infecției secundare a leziunilor chimice pe tractul respirator. În formele ușoare predomină conjunctivita acută, tuse, dispnee, arsuri retrosternale, dar există pericolul de edem pulmonar acut sau complicații pulmonare. Ingerarea de NH_3 determină arsuri ale mucoasei bucofaringiene, esofagiene, gastrice, edem glotic, uneori stenoză esofagiană. Contactul tegumentelor cu NH_3 lichid sau gazos (degajări masive) provoacă eritem și arsuri.

Toxicologie analitică. Se folosesc tuburi Dräger 25/a. În aer, amoniacul se poate determina prin metoda volumetrică, recoltarea

făcându-se într-o soluție de 0,02 N de H_2SO_4. Excesul de acid nereacționat se titrează cu o soluție de NaOH 0,02 N în prezența roșului de metil drept indicator.

Metoda spectrofotometrică, care are la bază reacția de culoare, pe care o dă în mediul alcalin ionul de amoniu, cu tetraiodomercuriatul de potasiu (reactiv Nessler), din care rezultă iodura de oxidimercuramoniu de culoare galben-brună.

Primul ajutor constă în scoaterea bolnavului din mediul toxic și spălarea leziunilor caustice ale pielii și mucoasei oculare cu cantități mari de apă și cu soluție de borat de sodiu.

Hainele udate cu amoniac vor fi dezbrăcate imediat.

În caz de ingestie, se administrează per os cantități mari (2 l) de apă de robinet sau lapte, după care se provoacă vărsături. Se asociază cu administrare per os de sucuri citrice, acid acetic 3-5% sau limonadă tartrică în cantități de minimum 2 l pentru 30 g amoniac. Se continuă cu emoliente: apă de amidon, lapte cu ouă crude, ulei.

În caz de stropire, se realizează rapid decontaminarea tegumentelor sau a globilor oculari cu apă de robinet (minimum 15 minute), apoi ser fiziologic (30 minute).

Se administrează per os formol 5%, 25-30 ml.

În caz de inhalare, se administrează oxigen barbotat prin soluție de acid acetic 5%, timp de 30 minute.

Se anunță imediat medicul.

Determinarea amoniacului

Izolare

Amoniacul gazos (NH_3) sau în aerosoli (NH_4OH) se izolează din aer prin reținere în soluții absorbante.

Identificare

1. Hârtia îmbibată cu *sulfocianură ferică* este decolorată de amoniac. Reacția nu este specifică, deoarece interferă vaporii acizi și alcalini, ca și aminele alifatice.
2. *Hârtia roșie de turnesol* este înălbăstrită de vaporii de amoniac.
3. Hârtia îmbibată cu *sulfat de cupru* este colorată de amoniac în albastru azur.

Dozare

Principiul metodei: Amoniacul reacționează cu reactivul Nessler – tetraiodomercuriatul dipotasic în mediu alcalin și formează un amestec de proporții variabile de iodură amido-oximercurică și triiodură amidomercurică, solubil, de culoare galben-brun, colorimetrabil. Intensitatea culorii soluției este proporțională cu cantitatea de amoniac. La concentrații mari de amoniac se obține un precipitat brun, insolubil. Sensibilitatea metodei este de 0,1 μg/ml.

Metoda nu este specifică, interferă sărurile de amoniu, unele amine aromatice, unele aldehide, anilina etc.

Reactivi

R_1 Soluție absorbantă: acid sulfuric 0,01 N sau apă bidistilată, proaspăt preparată;

R_2 reactiv Nessler: se dizolvă 50 g KI în 50 ml apă bidistilată caldă. Se adaugă, agitând continuu, soluția saturată de clorură mercurică (25 g $HgCl_2$ în 50 ml apă bidistilată caldă), până ce precipitatul de iodură mercurică format nu se mai dizolvă. Se adaugă aprox. 200 ml apă bidistilată și se lasă în repaos 24 ore. Se separă supernatantul, se adaugă o soluție de KOH (150 g KOH dizolvat în

300 ml apă bidistilată) şi se aduce amestecul la 1000 ml cu apă bidistilată. Se adaugă încă 5 ml clorură mercurică şi se lasă în repaos 24 ore. Se decantează supernatantul şi se conservă în sticle brune cu dop de cauciuc.

R_3 Soluţie standard stoc. Se dizolvă 0,3143 g NH_4Cl p.a. (menţinută în prealabil în exicator cu $CaCl_2$) în 1000 ml apă bidistilată. 1 ml = 0,1 mg NH_3.

Soluţie standard de lucru: Se diluează soluţia standard stoc cu apă bidistilată în proporţie de 1:100; 1 ml = 1 μg NH_3.

Recoltarea probelor

Se aspiră minimum 0,5 litri de aer, cu un debit de 0,1 l/minut, prin două absorbere montate în serie conţinând câte 2 ml soluţie absorbantă.

În afara microabsorberelor menţionate se mai folosesc încă 2 astfel de microabsorbere, fără a aspira aer prin ele, constituind probele martor.

$$NH_4OH + 2\,K_2[HgI_4] + 3\,KOH = \left[\begin{array}{c} Hg \\ O \quad NH_2 \\ Hg \end{array}\right]^{+} I^- + 7\,KI + 3\,H_2O$$

$$NH_3 + 2\,K_2[HgI_4] + KOH = \left[\begin{array}{c} I{-}Hg \\ NH_2 \\ I{-}Hg \end{array}\right]^{+} I^- + 5\,KI + H_2O$$

Modul de lucru

Conţinutul microabsorberelor se reuneşte prin transvazare, într-o eprubetă gradată şi se completează la 10 ml cu soluţie absorbantă. Pentru dozare, se iau în altă eprubetă gradată, 5 ml soluţie, se aduce

volumul la 10 ml cu soluție absorbantă și se adaugă 1 ml reactiv Nessler.

În mod similar se prelucrează și probele martor.

După 10 minute, se măsoară extincția la un spectrofotometru de tip Spekol la $\lambda = 440$ nm, în cuva de 1 cm, față de proba martor. Curba de standardizare se realizează între 2-10 μg NH_3, prin puncte din 2 în 2, în condițiile descrise mai sus. Cu extincțiile obținute se construiește curba standard sau se calculează factorul de pantă.

Valorile extincțiilor pentru probe se raportează la curba standard, apoi se înmulțește cu 2 (pentru că s-a lucrat cu ½ din soluția absorbantă), obținându-se concentrația C a NH_3 în μg.

Calcul

$$\text{mg } NH_3/\text{mc aer} = C/V$$

în care:

C = μg NH_3 din proba de analizat;

V = volumul de aer recoltat, exprimat în litri.

Observații. Pentru a elimina interferența sărurilor de amoniu, se filtrează aerul, înainte de a-l trece prin microabsorbere, printr-un filtru de hârtie sau o alonjă unplută cu vată.

1. Dacă la adăugarea reactivului Nessler se formează un precipitat, se reia dozarea cu un alicot din probă.
2. Reactivii și apa folosită la determinarea amoniacului trebuie să fie lipsiți de amoniac. Distilarea apei se va face în atmosferă lipsită de amoniac.

Normele republicane în vigoare prevăd pentru NH_3 CMA = 30 mg/mc aer.

Eprubeta / Reactivi (ml)	1	2	3	4	5	6 (M)
Sol standard de lucru	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0	-
Conc (µg)	2	4	6	8	10	-
Apă distilată	8,0	6,0	4,0	2,0	–	10,0
Reactiv Nessler			1,0			
Agitare, 10 min repaus						
Citire λ = 440 nm						

10. DETERMINAREA ACIDULUI SALICILIC

Derivații acidului salicilic se izolează din mediul acid cu solvenți organici.

Izolare

Produsul de analizat care conține derivați ai acidului salicilic se acidulează cu HCl 10 % şi se extrage de două ori cu câte 10 ml de eter etilic. Extractele eterice reunite se filtrează pe Na_2SO_4 anhidru, se evaporă la sec. Reziduul se reia cu apă distilată şi se fac reacții de identificare pentru acidul salicilic.

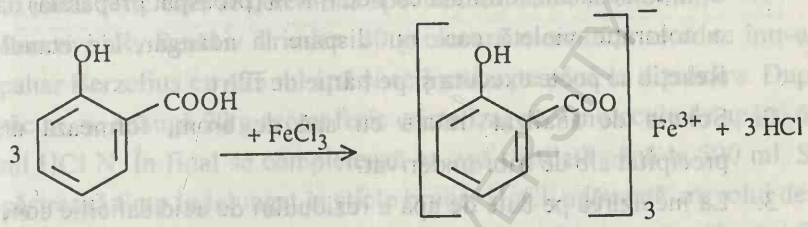
Salicilatul de metil poate fi antrenat cu vapori de apă.

Izolare din lichide gastrice (spălătură) stomacală, conținut stomacal: 25 ml lichid gastric se acidulează cu acid tartric la pH 4-5 şi se extrage de două ori cu 15 ml eter etilic conform metodei Stas-Otto-

BCU "LUCIAN BLAGA" CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Ogier. Extractele eterice reunite se filtrează pe Na_2SO_4 anhidru şi se evaporă pe sticle de ceas pt. identificare.

Izolare din urină. Se acidulează 25 ml urină cu 1 ml acid sulfuric 10 % (pH 2-3) şi se extrag de 2 ori cu 15 ml eter etilic. Extractele eterice reunite se filtrează pe sulfat de sodiu anh. şi se evaporă la sec pentru identificare.



Izolare din corpuri delicte. Produsul de analizat se pulverizează sau se suspendă în apă, după care se acidulează cu HCl 10 % până la pH 4-5 şi se extrag de 2 ori cu 15 ml eter etilic sau dicloretan. Extractele reunite sunt filtrate pe sulfat de sodiu anh şi se evaporă la sec pentru identificare.

Izolare din sânge (plasmă). 10 ml sânge (2 ml plasmă) se acidulează cu 0,5 ml HCl 20% şi se extrage de două ori cu 15 ml dicloretan. Extractul organic filtrat pe sulfat de sodiu anh. se evaporă la sec pentru identificare.

În ultimele 2 cazuri evidenţierea ionului salicilic se face după o prealabilă hidroliză alcalină.

Identificare

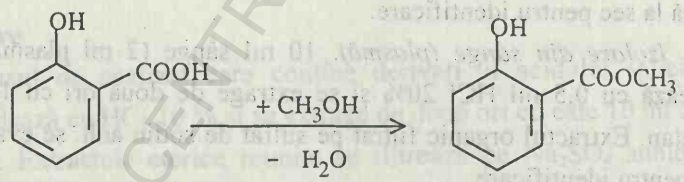
Urina: La 1 ml urină se adaugă 3 picături $FeCl_3$ 5 % (proaspăt preparată) când apare o coloraţie violetă în prezenţa ionului salicilic.

De asemenea, la 1 ml urină se pot adăuga 5 ml Reactiv Trinder, când se formează o coloraţie violetă, intensă.

Urină şi sânge: 0,5 ml urină sau plasmă se tratează cu 4,5 ml soluţie azotat feric 0,55 % în acid azotic 0,04 N. Apariţia unei coloraţii violete proporţională cu conc soluţiei indică prezenţa ionului salicilic.

Reacţii de culoare:

1. Soluţia de analizat tratată cu $FeCl_3$ 5 % (proaspăt preparată) dă o coloraţie violetă care nu dispare la adăugare de etanol. Reacţia se poate executa şi pe hârtie de filtru.
2. Soluţia de analizat tratată cu apă de brom, formează un precipitat alb de tribromderivat.
3. La încălzirea pe baie de apă a reziduului de acid salicilic conc se formează salicilat de metil cu miros caracteristic.
4. Se dizolvă reziduul la cald cu 2-3 ml apă distilată, se adaugă 3-4 picături nitrit de sodiu 10 %, 2 picături acid acetic glacial şi o picătură sulfat de cupru 10 %. Se fierbe 2 minute, când apare coloraţie roşie în prezenţa aspirinei sau a acidului salicilic.



Cromatografie în strat subţire. Reziduul se dizolvă în câteva picături de acetonă şi se spotează pe o placă cromatografică activată. Se poate face spotarea direct cu urină. Sistemul de migrare: Acid acetic glacial: benzen: eter etilic: metanol (1,8: 12: 6: 0,1) sau Amoniac conc: n-butanol: apă (3,3: 10: 6,6).

Revelarea se face prin pulverizare cu o soluție de $FeCl_3$ 5 % (proaspăt preparată). Se obțin spoturi colorate violet cu R_f în funcție de compusul prezent în probă (acizii acetilsalicilic, salicilic, gentizic).

Dozare spectrofotometrică. Se utilizează metoda Manuelle:

Principiul metodei: Ionul salicilic formează un complex violet cu ionul feric care se determină spectrofotometric la 540 nm.

Reactivi: R_1 Reactiv Trinder: 20 g clorură mercurică se aduc într-un pahar Berzelius cu 425 ml apă și se încălzește până la dizolvare. După răcire, se adaugă 20 g azotat feric cristalizat cu 9 molecule de apă și 60 ml HCl N. În final se completează cu apă distilată până la 500 ml. Se păstrează timp îndelungat în sticle brune. $HgCl_2$ adăugată are rolul de a precipita proteinele, care se separă prin centrifugare sau filtrare. Se poate folosi și pentru sânge.

R_2 Soluție etalon: 0,2320 g salicilat de sodiu se dizolvă în 100 ml apă distilată, se adaugă 3 picături acid sulfuric conc. și se completează la semn cu apă distilată. 1 ml = 2 mg acid salicilic.

Soluția etalon de lucru: se diluează 20 ml soluție stoc la 100 ml, cu H_2O (1 ml = 400 μg). Se adaugă câteva pic de $CHCl_3$ pentru conservare.

Modul de lucru

La 1 ml urină (eventual diluată) sau 1 ml ser (plasmă, l.c.r.) se adaugă 5 ml reactiv Trinder, se agită energic, se centrifughează. Se citește extincția supernatantului la un Spekol la $\lambda = 540$ nm în cuva de 1 cm față de o probă oarbă.

Curba de etalonare se trasează între 100 și 400 μg/probă. Se calculează factorul de pantă mediu și apoi conc probei în μg.

Eprubeta nr. / Reactivi (ml)	1	2	3	4	5	6 (M)
Sol etalon (1ml = 400 µg)	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	-
Conc (µg)	80	160	240	320	400	-
Apă distilată	0,8	0,6	0,4	0,2	-	1,0
Reactiv Trinder			5,0			5,0
Agitare, 10 min repaus						
Citire λ = 540 nm						

Calcul: Rezultatele se exprimă în mg/100 ml sânge sau mg/litru urină.

mg acid salicilic/100 ml sânge = C/10,

mg acid salicilic/1000 ml urină = C,

în care C = conc în µg de acid salicilic.

Interpretarea rezultatelor

În intoxicațiile acute cantitatea de acid salicilic în sânge variază între 20 şi 100 mg %. Cantități mai mari de 100 mg % arată o intoxicație salicilică gravă. În intoxicații, cantitățile de acid salicilic prezente în urină variază între 1-4 mg/ml funcție de diureză şi tratament.

În tratamente, salicilemia este de 5-20 mg %; în intoxicații acute uşoare 25-50 mg %; în formele medii 50-100 mg %; conc letală este 160 mg %.

Dozarea acidului salicilic în lichide gastrice

În cazul ingerării de acid acetilsalicilic, reacția cu reactiv Trinder este negativă sau slab pozitivă fără o hidroliză prealabilă în mediu alcalin.

Se iau în lucru 10 ml lichid gastric se adaugă 10 ml apă distilată şi 1 ml NaOH 40 %. Se încălzeşte pe sită 5 minute. Se răceşte

în curent de apă rece după care se ia 1 ml hidrolizat, se adaugă 4,0 ml apă distilată și se aduce la pH 5 cu HCl 10 %. Se agită și se continuă apoi lucrul ca la urină.

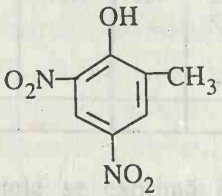
Observațiile studenților.

Calcule.

Rezultatele analizelor.

BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

11. DETERMINAREA DINITRO-ORTO-CREZOLULUI



Izolare

Dinitro-orto-crezolul (DNOC) se izolează din mediu acid cu solvenţi organici.

a) *Izolare din urină*: se acidulează 20 ml urină cu acid clorhidric 10% şi extrag de două ori cu câte 20 ml cloroform. Fazele cloroformice reunite se filtrează pe un filtru uscat şi se evaporă la sec pe baie de apă.

b) *Izolare din sânge.*

1. Se triturează 3-5 ml sânge cu 10-15 g sulfat de sodiu anhidru şi 0,2-0,5 g acid tartric. Se trece cantitativ amestecul într-un flacon Erlenmeyer cu dop rodat şi se agită 15-30 minute cu 30-50 ml cloroform. Faza cloroformică se filtrează şi se evaporă la sec pe baie de apă.

2. Se triturează 1 ml sânge cu 1 g amestec: clorură de sodiu + carbonat de sodiu (9:1) şi se agită cu 5 ml metiletilcetonă. Faza organică se filtrează şi se evaporă la sec.

c) *Izolare din produse alimentare* (corpuri delicte): se introduc 25-50 g produs alimentar (corp delict) bine mărunţit într-o pâlnie de separare şi se tratează cu 1-2 ml acid clorhidric 25% şi se extrag de

BCU IAŞI / CENTRALA UNIVERSITY LIBRARY

două ori cu câte 10-20 ml eter etilic agitând (moderat) timp de 10 minute. Fazele eterice reunite se filtrează pe un filtru uscat şi se evaporă la sec la temperatura laboratorului.

d) *Izolare din apă*: se acidulează 250-500 ml apă cu acid sulfuric concentrat (2 ml H_2SO_4 pentru fiecare 100 ml apă). Se extrage de 3 ori cu câte 50 ml eter etilic, agitând câte 3 minute. Extractele eterice se reunesc într-o pâlnie de separare care conţine 100 ml apă bidistilată. După separarea fazelor, faza eterică se trece pe un filtru cu sulfat de sodiu anhidru, iar filtratul se evaporă la sec, la temperatura laboratorului.

Identificare

5. *Reacţii preliminare* (fără izolare)

a) Se tratează 5 ml urină cu 1 ml acid clorhidric concentrat şi 0,2-0,5 g pulbere de zinc şi se fierbe 5 minute într-o baie de apă. Se răceşte şi se filtrează. Se adaugă la filtrat 0,2 ml sulfat ceric 1% în acid sulfuric 5% când apare o colorație roşie.

b) Se tratează 15 ml urină cu 1,5 acid sulfuric 10% şi 0,5 g pulbere de zinc şi se fierbe 10 minute într-o baie de apă. Se răceşte şi se filtrează. Se adaugă 2 ml beta-naftol 0,5% în amoniac 10%. Se agită, apoi se adaugă 10 ml eter etilic. Stratul eteric se colorează în roşu sau vişiniu în prezenţa metaboliţilor aminici ai DNOC (reacţia Derrien).

c) Se tratează 1 ml sânge cu 10 ml metiletilcetonă şi 1 g amestec de 9 p. clorură de sodiu şi 1 p. carbonat de sodiu. La agitare apare o colorație galbenă în prezenţa DNOC.

6. *Reacții de culoare*

a) Reziduul se reia cu 2 ml apă, apoi se adaugă 2 ml acid sulfuric 20% și 2 granule de zinc amalgamat. După 15 minute se filtrează. Filtratul se tratează cu 1-2 picături de bicromat de potasiu 5% (sau alt oxidant: apă oxigenată, nitrit de sodiu 1% sulfat ceric 0,02N, cloramină T 4%) când apare o colorație roșie, atât în prezența DNCO, cât și a altor dinitrofenoli (reacția Mayer).

b) Reziduul se tratează cu 2 ml acid clorhidric 10%, apoi se adaugă puțin zinc pulbere și se încălzește 5 minute în baia de apă la fierbere. Se răcește și se filtrează. Filtratul se tratează cu 0,1 ml nitrit de sodiu 0,1%. După 5 minute se distruge excesul de nitrit cu 1 ml soluție de uree 10%, iar după alte 5 minute se adaugă 1 ml soluție N-naftiletilendiamină 0,1% când apare o colorație violetă. Reacția este interferată de paration și de alți compuși cu grupări nitro sau amine aromatice primare.

7. *Cromatografie pe strat subțire*

Se dizolvă reziduul în 0,2-0,5 ml acetonă sau cloroform și se spotează pe cromatoplacă în paralel cu martori.

Developant: cloroform: acetonă (9: 1)

Revelant: Hidroxid de potasiu 1 % în apă-alcool (1: 1).

Se obțin spoturi galbene pe fond alb.

Dozare

1. *Metoda spectrofotometrică*

Principiu: Dinitro-orto-crezolul este redus cu zinc și acid clorhidric la aminoderivatul corespunzător, care, cu un oxidant – sulfat

ceric, bicromat de potasiu – formează un derivat chinoniminic de culoare roşie, colorimetrabil

Sensibilitatea metodei este de 5 μg/ml.

a) *Aer, produse biologice*

Reactivi

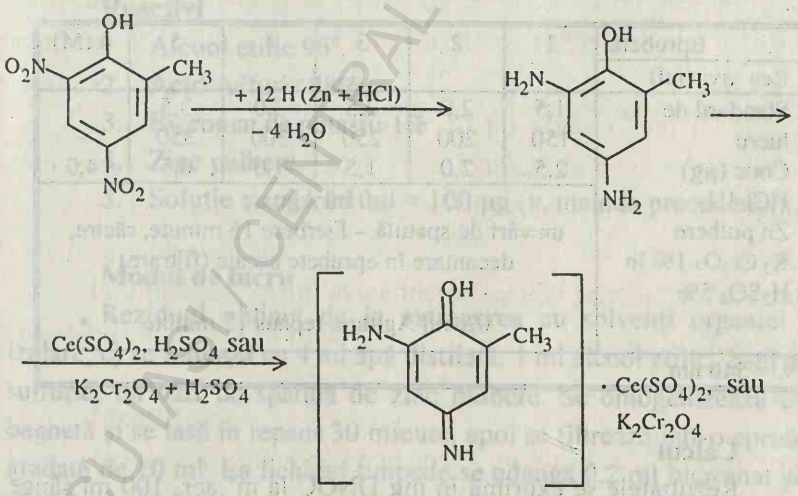
R_1 Soluție absorbantă, hidroxid de sodiu 1%

R_2 Acid clorhidric 1/1.

R_3 Zinc pulbere.

R_4 Bicromat de potasiu sau sulfat ceric 1% în acid sulfuric 5%.

R_5 Soluție standard: se cântăresc 0,1000 g DNOC şi se aduc la 1000 ml cu apă. 1ml = 100 μg DNOC



BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Recoltarea probelor

Se aspiră 15-20 litri aer cu un debit de 10 litri/oră printr-un microabsorbitor conținând 2 ml soluție absorbantă.

Modul de lucru

La 1 ml soluție din microabsorbitor se adaugă 3 ml apă distilată; reziduul obținut se extrage cu solvenți organici (v. Izolare a,b) se dizolvă în 4 ml apă distilată. În ambele cazuri se adaugă 1 ml acid clorhidric 1:1 și 1-2 granule de zinc amalgamat sau un vârf de spatulă pulbere de zinc. Se încălzește 15 minute pe baia de apă la fierbere. Se răcește și se filtrează în eprubete uscate. Se adaugă 0,1 ml sulfat ceric sau bicromat de potasiu 1% în acid sulfuric 5%. Se citește extincția după 15 minute, la spectrofotometru, la λ = 540 nm, în cuva de 1 cm față de apa distilată.

Valoarea obținută se raportează la o scară etalon.

Eprubeta / Reactivi (ml)	1	2	3	4	5	6 (M)
Standard de lucru	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	-
Conc (µg)	150	200	250	300	350	-
	2,5	2,0	1,5	1,0	0,5	4,0
HCl 1:1 Zn pulbere $K_2Cr_2O_7$ 1% în H_2SO_4 5%	1,0 ml Agitare un vârf de spatulă – Fierbere 15 minute, răcire, decantare în eprubete uscate (filtrare) 0,1 ml Agitare, repaus 15 minute					
λ = 540 nm						

Calcul

Rezultatele se exprimă în mg DNOC la m^3 aer, 100 ml sânge și 1000 ml urină;

mg DNOC/m^3 aer = 2 C/V

mg DNOC/100 ml sânge = C/10A

mg DNOC/1000 ml urină = C/A

în care:

C = concentrația DNOC, în μg;

V = volumul de aer recoltat, în litri;

A = volumul de sânge (urină) luat în lucru, în ml.

Interpretarea rezultatelor

Doza letală de DNOC, la om este apreciată la 200 mg.

La concentrații sanguine în jur de 20 mg DNOC/litru sânge apar simptomele intoxicației. Concentrații sanguine de 40-60 mg/litru indică intoxicații severe.

b. *Produse alimentare* (corpuri delicte)

Reactivi

1. Alcool etilic 96°.
2. Acid sulfuric 38%.
3. Bicromat de potasiu 1%
4. Zinc pulbere.
5. Soluție standard 1 ml = 100 μg (v. metoda precedentă).

Modul de lucru

Reziduul obținut de la extragerea cu solvenți organici (v. izolare, c) se tratează cu 4 ml apă distilată, 1 ml alcool etilic, 2 ml acid sulfuric, un vârf de spatulă de zinc pulbere. Se omogenizează cu o baghetă și se lasă în repaus 30 minute, apoi se filtrează într-o eprubetă gradată de 10 ml. La lichidul limpede se adaugă 0,2 ml bicromat și se completează la 10 ml cu apă distilată. Se citește extincția la

spectrofotometru, la $\lambda = 500$ nm, în cuva de 1 cm, față de un martor al reactivilor.

Curba de etalonare se întocmește între 150 μg și 350 μg DNOC. Valoarea obținută se raportează la o scară etalon.

Calcul:

Rezultatele se exprimă în mg DNOC la 1 kg produs alimentar sau corp delict.

Mg DNOC/kg produs alimentar = C/A

în care:

C = concentrația DNOC, în μg;

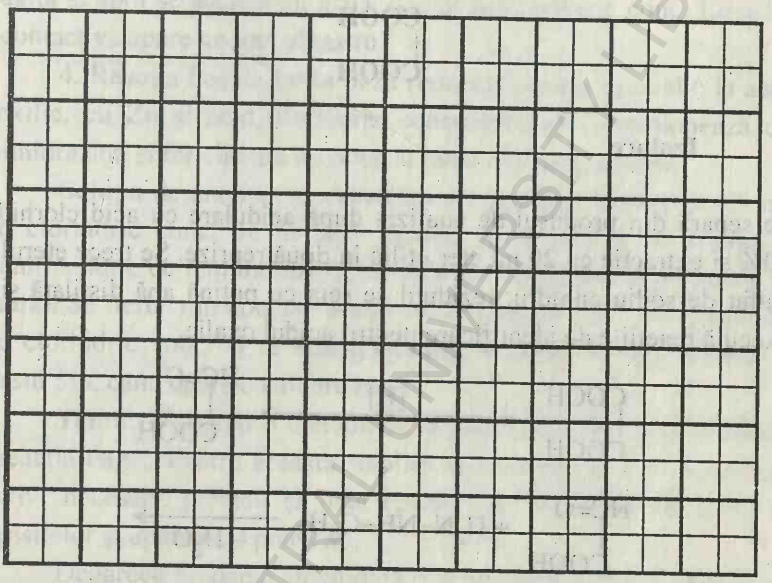
A = masa de produs alimentar sau corp delict luat în lucru, în grame.

Observațiile studenților.

Calcule.

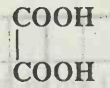
Rezultatele analizelor.

BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY



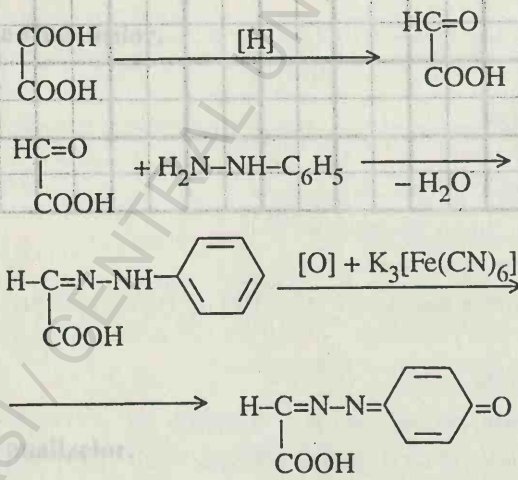
BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

12. DETERMINAREA ACIDULUI OXALIC ŞI A SĂRURILOR SALE



Izolare

Se separă din produsul de analizat după acidulare cu acid clorhidric 10% şi extracţie cu 20 ml eter etilic în două reprize. Se trece eterul pe sulfat de sodiu anhidru, reziduul se reia cu puţină apă distilată şi se execută reacţiile de identificare pentru acidul oxalic.



Identificare

1. Soluţia de analizat acidulată cu acid sulfuric 20% decolorează la cald soluţia de permanganat de potasiu 0,05%.

ECUIASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

2. Soluția de analizat tratată cu clorură de calciu 10% formează un precipitat alb cristalin de oxalat de calciu insolubil în acid acetic și solubil în acid clorhidric.

3. La soluția de analizat se adaugă puțină pulbere de rezorcină, se agită și apoi se adaugă cu grijă 2-3 ml acid sulfuric conc. La zona de contact va apare un inel albastru.

4. Reacția Paget: are la bază reducerea acidului oxalic la acid glioxilic, cu Zn și acid clorhidric concentrat, care reacționează cu fenilhidrazina și fericianura de potasiu dând o coloratie roșie.

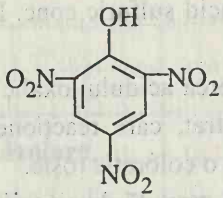
Soluția de analizat se tratează cu o granulă de zinc și 0,5 ml acid clorhidric conc. Se fierbe 1 minut, se răcește și se adaugă 5 picături soluție de fenilhidrazină clorhidrică 1% (proaspăt preparată și filtrată). Se fierbe din nou, se răcește, se diluează cu un volum egal de acid clorhidric conc. și se adaugă câteva picături de fericianură de potasiu 5%, când apare o culoare roșie.

Temă: Elaborați o metodă de dozare a acidului oxalic bazată pe reacția Paget. Pentru aceasta stabiliți concentrațiile și volumele de reactivi necesari, precum și lista reactivilor, soluțiilor de lucru, a ustensilelor și aparatelor potrivite.

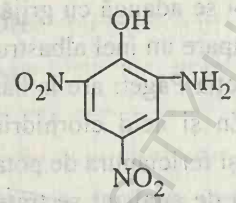
Deoarece gruparea aldehidică reacționează cu inelul indolic al triptofanului, vă rugăm să analizați posibilitatea determinării acidului oxalic cu reactivi conținând triptofan sau proteine. Scrieți reacțiile posibile ! Calculați necesarul de reactivi !

Observații și comentarii.

13. DETERMINAREA ACIDULUI PICRIC ŞI A SĂRURILOR SALE



Acid picric (galben)



Acid picramic (rosu)

Izolare

Se extrage prin procedeul Stas-Otto-Ogier din lichidul apos acid cu eter etilic. Reziduul se reia cu apă distilată şi în soluţie se fac reacţii de identificare.

Identificare

1. Soluţia de analizat tratată cu 1-2 picături soluţie de cianură de potasiu 0,1% şi câteva picături de hidroxid de potasiu 10%, la uşoară încălzire de formează o coloraţie roşie intensă datorită izopurpuratului de potasiu.
2. La 3 ml soluţie de analizat se adaugă câteva picături sulfat de cupru 10%, 1-2 ml amoniac 10%, apare un precipitat galben verzui, la microscop prezintă cristale cu aspect de prisme.
3. Soluţia de analizat se reduce cu Zn şi acid clorhidric conc., la triaminofenol care prin neutralizare cu amoniac şi suprapunere de 1-2 ml apă oxigenată formează la zona de contact un inel albastru.

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

4. Reacția Ruppeau: Soluția de analizat alcalinizată cu amoniac și apoi se introduc la fundul eprubetei, cu o pipetă, 1-2 ml reactiv Ruppeau (2 g $FeSO_4$, 10 g acid tartric, apă distilată ad. 100 ml). La limita de separare a lichidelor apare un inel roșu.
5. Reacția Derrien. (pentru identificarea acidului picramic – metabolit al acidului picric). Soluția de analizat se tratează cu 2 picături azotit de sodiu 1% și 10 picături acid sulfuric 20% (are loc diazotarea) și 30 picături soluție amoniac saturată extemporaneu cu beta-naftol, când apare un compus violet, solubil în eter. Acidul picric nu interferă în reacție

Identificarea din urină

Se defecă 50 ml urină cu 5 ml reactiv Courtonne (acetat bazic de plumb), se agită, se filtrează, se acidulează cu acid sulfuric 20% și se filtrează din nou. Filtratul se extrage de două ori cu câte 5 ml cloroform într-o pâlnie de separare. Se iau într-o eprubetă 5 ml extract cloroformic, se adaugă 5-6 picături amoniac și 1 ml apă distilată. Se agită și după separarea straturilor se introduc la fundul eprubetei 2 ml reactiv Ruppeau; la limita se separare a stratului cloroformic de soluția amoniacală, apare un inel roșu, datorită prezenței în urină a acidului picramic, metabolit al acidului picric.

Deoarece acidul picric se află în urină sub formă de metabolit (acid picramic) acesta se identifică prin reacția Derrien: 20 ml urină se tratează ca la punctul 5.

La subiecții care au luat un medicament iodat, această determinare nu poate fi făcută decât prin eliminarea în prealabil a medicamentului, prin epuizare cu cloroform.

Temă: Elaborați o metodă de dozare a acidului picric bazată pe reacția sa cu reducătorii. Pentru aceasta stabiliți concentrațiile și volumele de reactivi necesari, precum și lista reactivilor, soluțiilor de lucru, a ustensilelor și aparatelor potrivite.

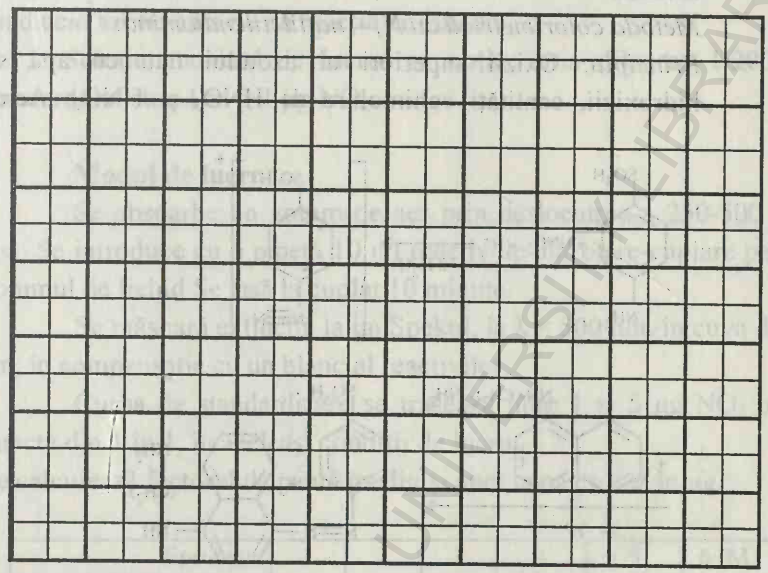
Observațiile studenților.

Calcule.

Rezultatele analizelor.

BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Curba de calibrare:



14. DETERMINAREA OXIZILOR DE AZOT

Izolare

Determinarea oxizilor de azot (NO_2, N_2O_4, N_2O_5), sub formă de gaz sau vapori, se realizează după reținere în soluții absorbante.

Identificare

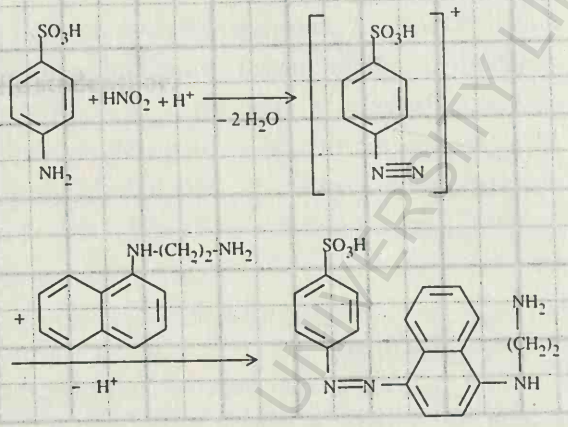
1. Hârtia indicator universal virează în roşu în prezența oxizilor de azot (mediu acid). Reacția este nespecifică.
2. Hârtia de filtru îmbibată cu iodură de potasiu şi amidon este înălbăstrită de oxizii de azot.
3. Reactivul Griesz dă o coloraţie roz cu oxizii de azot.

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Dozare

Metoda colorimetrică cu N_1 – naftiletilendiamină:

Principiu: Oxizii superiori ai azotului dau cu apa sau hidroxizii, cantități echimolare de HNO_3 și HNO_2. Acidul



azotos diazotează acidul sulfanilic și apoi se cuplează cu N_1 – naftiletilendiamină cu formarea unui compus diazo, roșu stabil, colorimetrabil. Sensibilitatea metodei este de 0,05 µg/ml.

Reactivi

1. Reactiv de diazotare-cuplare: într-un mojar se pulverizează și se amestecă bine 1 g N_1 – naftiletilendiamină cu 4 g acid sulfanilic și 95 g acid tartric. Se conservă în flacoane brune, păstrate la întuneric.

La întrebuințare se dizolvă 1 g din amestecul de mai sus în 100 ml apă. Soluția trebuie să fie incoloră sau cel mult roză.

2. Soluția standard stoc: se dizolvă 0,1599 g nitrit de sodiu p.a. într-un balon cotat de 1000 ml cu apă bidistilată. 1 ml = 100 µg NO_2. însă corespunde cu 200 µg NO_2 deoarece prin reacția oxizilor de azot

cu apă rezult• un amestec din care numai ½ este acid azotos, restul fiind acid azotic care nu dă reacția de culoare.

3. Soluție standard de lucru: se obține prin diluarea 1:200 a standardului stoc 1ml = 1 μg NO_2.

Modul de lucru

Se absoarbe un volum de aer prin deslocuirea a 250-500 ml apă. Se introduce cu o pipetă 10 ml reactiv de diazotare-cuplare peste volumul de lichid Se lasă la cuplat 10 minute.

Se măsoară extincția la un Spekol, la λ = 500 nm, în cuva de 1 cm, în compensație cu un blanc al reactivilor.

Curba de standardizare se trasează între 1 şi 5 μg NO_2 prin puncte din 1 în 1, în aceleaşi condiții de lucru.

Se calculează factorul de pantă mediu şi apoi conc probei în μg.

Eprubeta / Reactivi (ml)	1	2	3	4	5	6 (M)
Standard de lucru (1μg/ml)	1,0 1	2,0 2	3,0 3	4,0 4	5,0 5	- -
Conc (μg)	9,0	8,0	7,0	6,0	5,0	10,0
Reactiv de diazotare						
Agitare, 10 min						
repaus						
Citire λ = 500 nm						

Calcul

Rezultatele se exprimă în mg NO_2/mc aer.

mg NO_2/mc aer = C/V

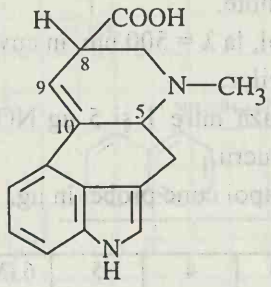
în care C = conc în μg de NO_2,

V = vol de aer recoltat, în litri.

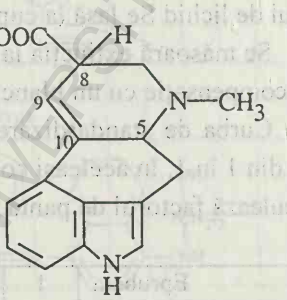
Interpretarea rezultatelor

Normele republicane prevăd : CMA = 8 mg/mc aer, exprimați în NO_2.

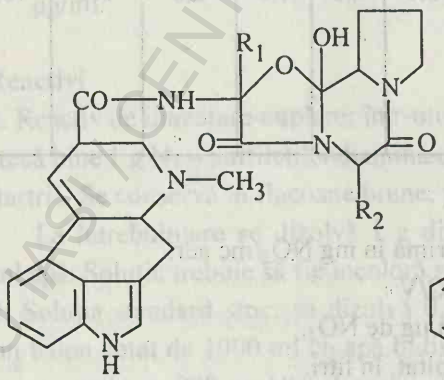
15. DETERMINAREA ALCALOIZILOR DIN ERGOT



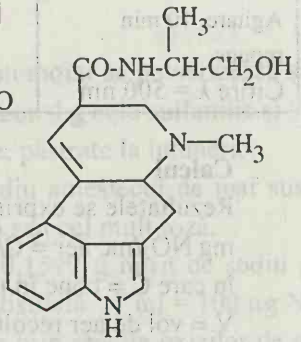
Acid lisergic



Acid izolisergic



Structura alcaloizilor din ergot



Ergometrina

BCU MS / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Izolare

Alcaloizii din cornul de secară se izolează din soluții apoase alcaline, cu solvenți organici.

Identificare

Reacția de precipitare.

Reactiv Hager: aglomerări de cristale în formă de bastonașe;

Acid trinitrobenzoic: Reziduul reluat cu 1-2 pic de HCl 10 % și 4-5 pic de acid trinitrobenzoic 5 % formează cristale în formă de dentrite.

Clasificarea alcaloizilor din ergot

Grupa	Alcaloidul levogir	Alcaloidul dextrogir
I	Ergotamina	Ergotaminina
	Ergozina	Ergozinina
II	Ergotoxina	
	Ergocristina	Ergocristiinana
	Ergocriptina	Ergocriptinina
	Ergocornina	Ergocorninina
III	Ergometrina (ergobazina sau ergonovina)	Ergometrinina

8. *Reacția de culoare.*

Ergometrina (Ergobazina)

a) Reziduul tratat cu 2-3 pic reactiv Marquis dă o colorație brună.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

b) Reziduul tratat cu 2-3 pic reactiv Frőhde dă o coloraţie verde ce trece în roşu şi apoi în albastru.

c) Reacţia Vitali executată pe reziduu dă o coloraţie portocalie-galben-purpurie.

d) Molibdat de amoniu: verde care trece în roşu, apoi în albastru.

Ergotoxina

a) Reziduul tratat cu 2-3 pic reactiv Frőhde dă o coloraţie violet-albastră ce trece în verde.

b) Reziduul tratat cu 2-3 pic reactiv Mandelin dă o coloraţie violet ce trece în verde.

c) Reziduul tratat cu 2-3 pic reactiv Lafon dă o coloraţie galbenă ce trece în verde.

d) Reziduul tratat cu 2-3 pic reactiv Wasicki dă o coloraţie violet pal.

e) Reziduul tratat cu 2-3 pic reactiv Marquis dă o coloraţie neagră cu contur violet.

f) Reziduul tratat cu 2-3 pic acid sulfuric conc dă o coloraţie galbenă ce trece în verde-oliv, apoi în verde intens.

g) Reacţia Vitali: brun, cu contur violet

Ergot*am*ina

a) Reziduul tratat cu 2-3 pic reactiv Frőhde dă o coloraţie cenuşie-albastră.

b) Reziduul tratat cu 2-3 pic reactiv Marquis dă o coloraţie brună.

c) Reziduul tratat cu 2-3 pic reactiv Mandelin dă o coloraţie brună.

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

d) Reacția Vitali executată pe reziduu dă o coloratie portocalie-violetă.

e) Molibdat de amoniu: cenușiu-albăstrui

f) Vanadat de amoniu: brun

Cromatografie în strat subțire:

Reziduul reluat cu metanol se spotează pe cromatoplacă în paralel cu un martor.

Faza mobilă: cloroform: metanol (9: 1)

Amoniac conc: etanol (1,5: 100).

Revelarea se face prin expunere în lumina u.v. (fluorescență albastră intensă), pulverizare cu permanganat sau cu para-dimetilaminobenzaldehidă. Se spotează placa cu reactiv paradimetilaminobenzaldehidă (PABA) (se dizolvă 1 g PABA în 100 ml etanol și se adaugă 10 ml HCl conc). Se obține o fluorescență în UV dată de prezența acidului lisergic.

Spectrofotometrie în u.v.

Ergotamina bază — 315 nm (H_2SO_4 0,1N);

Ergotamină tartrat — 239 și 317 nm (acid tartric 10%);

Ergobazină bază — 312 nm (H_2SO_4 0,1N);

Identificarea alcaloizilor din ergot

Un amestec global de alcaloizi se identifică în extractul eteric după alcalinizare cu hidroxid de sodiu (din vomă, spălături stomacale, corp delict), care se împarte în patru porțiuni:

— la încălzire cu KOH 10% se degajă un miros urât de trimetilamină;

— la tratare cu 5 ml soluție de oxalat de sodiu 5%, apare o coloratie roșie;

— la tratare cu 5 ml H_2SO_4 apare o coloraţie portocalie şi un inel albastru la delimitarea celor două lichide;

— la agitare cu $NaHCO_3$, apare o coloraţie roşie-violetă.

Examen microscopic

Se realizează pe conţinut stomacal sau corpuri delicte, când se observă aglomerări de celule inegale, rotunjite sau alungite, iar fragmentele stratului periferic sunt colorate în brun-violaceu.

16. DETERMINAREA NICOTINEI

Izolare

Nicotina se izolează prin metoda Stas-Otto-Ogier sau prin antrenare cu vapori de apă.

Urina alcalinizată la pH 11-12 cu NaOH 10% este supusă antrenării cu vapori de apă. Se culege distilatul în puţin HCl 0,1 N. În aceste condiţii nu sunt antrenaţi compuşii cu structură similară prezenţi în mod normal în organism (amida acidului nicotinic).

Urina alcalinizată la pH 11-12 cu NaOH 10 % se extrage cu 10 ml $CHCl_3$ de 2-3 ori. Extractele cloroformice reunite se tratează cu 1-2 pic HCl 0,1 N şi se evaporă la 40-50°C pe baie de apă.

Izolare din aer. Se barbotează aerul prin H_2SO_4 diluat.

Izolare din tutun. Se macerează tutunul într-o soluţie alcalină timp de 30 minute. Se filtrează şi se extrage cu cloroform. Se repetă extragerea de 2-3 ori. Extractele cloroformice reunite sunt evaporate.

Se reia reziduul cu acid acetic 1% sau cu o soluție foarte diluată de etanol.

Identificare

1. *Reacții de precipitare.* Nicotina precipită cu reactivii generali de precipitare ai alcaloizilor. Reziduul tratat cu 2-3 pic din reactivii Bouchardat și Dragendorff formează un pp brun-roșcat, roșu, iar, cu reactivul Sonnenschein un pp galben-portocaliu. În soluții mai concentrate se obține cu reactivul Hager, picrat de nicotină, pp galben sub formă de cristale cu p.t. 217°C.
2. *Reacții de culoare.*

a) Reacția Kőnig: se neutralizează 5 ml soluție de analizat cu acid acetic 10 % sau HCl 10 %. Se adaugă 1 ml soluție de bromcian, proaspăt preparată și se menține 2 minute pe baia de apă la 80°C. Se adaugă 3 ml soluție de acetat de benzidină 1 % și 2 ml HCl 20 %. Apare o coloratie galben-portocalie, colorimetrabilă. Reacția este caracteristică nucleului piridinic, care sub acțiunea bromcianului se scindează cu formare de aldehidă glutaconică. Aceasta, prin condensare cu o amină primară formează o aldehidă galben-portocalie. Sensibilitatea reacției este de câteva μg. Bromcianul se prepară adăugând peste apa saturată cu brom, o soluție de KCN 10 %, până la decolorare. Pentru a elimina riscul legat de manipularea KCN, se poate utiliza în loc de bromcian, bromtiocian, preparat din tiocianat de potasiu în loc de cianură de potasiu.

b) Reacția cu para-dimetilaminobenzaldehidă; se tratează soluția de nicotină cu 1-2 ml soluție de p-dimetilaminobenzaldehidă 10% în acid clorhidric concentrat, când apare o coloratie violetă.

3. *Reacții microcristalografice:*

a) Reacția Roussin: se tratează reziduul dizolvat în eter cu o soluție eterică de iod 2-3%. Se prepară un lichid uleios roșu-brun, din care, după câteva ore, apar cristale aciculare roșii-rubinii, transparente, de iod-nicotină. Hiosciamina dă, în aceleași condiții, cristale brun închis.

b) Reacția Dragendorff: peste o picătură de alcaloid bază se adaugă o picătură de reactiv Dragendorff, când se formează cristale roșii închis până la negru, cu aspect de "păsări în zbor" vizibile la microscop. Sensibilitatea reacției este de 1 microgram.

4. *Cromatografie în strat subțire:*

a) Faza staționară: plăci silicagel G Merck, activate la 110°C, o oră.

b) Faza mobilă: cloroform: metanol (1,5 : 100)
Amoniac conc: metanol (1,5: 100)

c) Proba de analizat: extract cloroformic bazic.

d) Martor nicotină în cloroform.

e) Revelare: plăcile se usucă în atm și se stropesc cu reactiv iodoplatinat acidulat. Rf = 0,57.

5. *Test fiziologic:*

Prin injectarea clorhidratului de nicotină în sacul limfatic al broaștei, se obține "poziția nicotinică" specifică, variind în raport cu doza administrată.

BCU IAȘI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. T. J. Haley, W.O.Berndt, *Handbook of toxicology*, Harpen and Row, Cambridge, New York, Philadelphia, 1987.
2. C. A. Kimmel, J. Buelke-Sam, *Developmental toxicology*, Raven Press, 1981.
3. M. Cotrău, *Implicații ale consumului de etanol în industria chimică*. M.I.Ch., Iași, 1983.
4. M. Cotrău, *Toxicologia substanțelor organice*. Edit. M.I.Ch., București, 1985.
5. M. Cotrău , *Toxicologie*, Edit. did și ped., București, 1993.
6. M. Proca, E. Butnaru, L. Agoroaei, *Lucrări practice de toxicologie*, UMF, Iași, 1996.
7. M. Cotrău, M. Proca, *Toxicologie, lucrări practice*, Iași, Lit. IMF, Iași, 1983.
8. G. Drochioiu, I. Druță, *Toxicologie*, Edit. Tao, Suceava, 1999.
9. A.W.A. Brown, *Ecology of pesticides*. John Wiley ed., New York, Chichester, Brisbane, Toronto, 1978.
10. C. Fest, K.J. Schmidt, *The chemistry of organophosphorous pesticides. Reactivity. Synthesis. Mode of Action. Toxicology*, C. Fest, K.J. Schmidt eds., Berlin, Heidelberg, New York, Springer, 1973.
11. x x x *Regulating pesticides in food*, National Academy Press, Washington DC, 1987.
12. I. Sunshine, *Methodology for analytical toxicology*. CRC Press, Palm Beach, USA, 1975.

13. G. Drochioiu, I. Mangalagiu, V. Tataru, *Analyst,* **125** (2000) 939-941.
14. W. Leithe, *The analysis of air pollutants*. Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, 1991.
15. H. R. Wetherell, *J. Forensic Sci.,* **11** (1966) 167-169.
16. I. Sunshine, B.Finkle, *Int.Arch. Arbeitsmed.*, **20** (1964) 588- 592.
17. S. Amlathe, V. K. Gupta, *Fres. J. Anal. Chem.*, **338** (1990) 615-617.
18. W. König, *J. Prakt. Chem.*, **69** (1904) 105-137.
19. W. N. Aldridge, *Analyst*, **69** (1944) 262-264.
20. J. Epstein, *Anal. Chem.*, **19** (1947) 272-274.
21. T. Pal, A. Ganguly, *Analyst*, **112** (1987) 1327-1329.
22. P. Kaur, S. Upadhyay, V. K. Gupta, *Analyst*, **112** (1988) 1681-1683.
23. P. Prodanov, *Izv. Inst. Sravnitelna Patol. Zhivotn., Bulgar. Akad. Nauk*, **10** (1964) 277-281.
24. M. Mariaud, P. Levillain, *Talanta*, **34** (1987) 535-538.
25. A. Sano, M. Takezawa, S. Takitani, *Talanta*, **34** (1987) 743-744.
26. D. Felscher, M. Wulfmeyer, *J. Anal. Toxicol.*, **22** (1998) 363-366.
27. K. Stein, J.U. Hain, *Microchim. Acta*, **118** (1995) 93-101.
28. G. Drochioiu, R. Cojocaru, G. Petrache, Murariu, M. *Actes de Colloque Franco-Roumain de Chimie Appliquée*, Bacau-2000 (2000) 110-113.
29. 28. L. Han, H. Zuo, *Kuangye*, **9** (2000) 91-95. Chem. Abstr. (2000) 133: 368830w.
30. G. Drochioiu, *Talanta,* (2001), in press.
31. D. Banciu, M. Oardă, *Intoxicaţiile acute*, Ed. Medicală, Bucureşti, 1964.

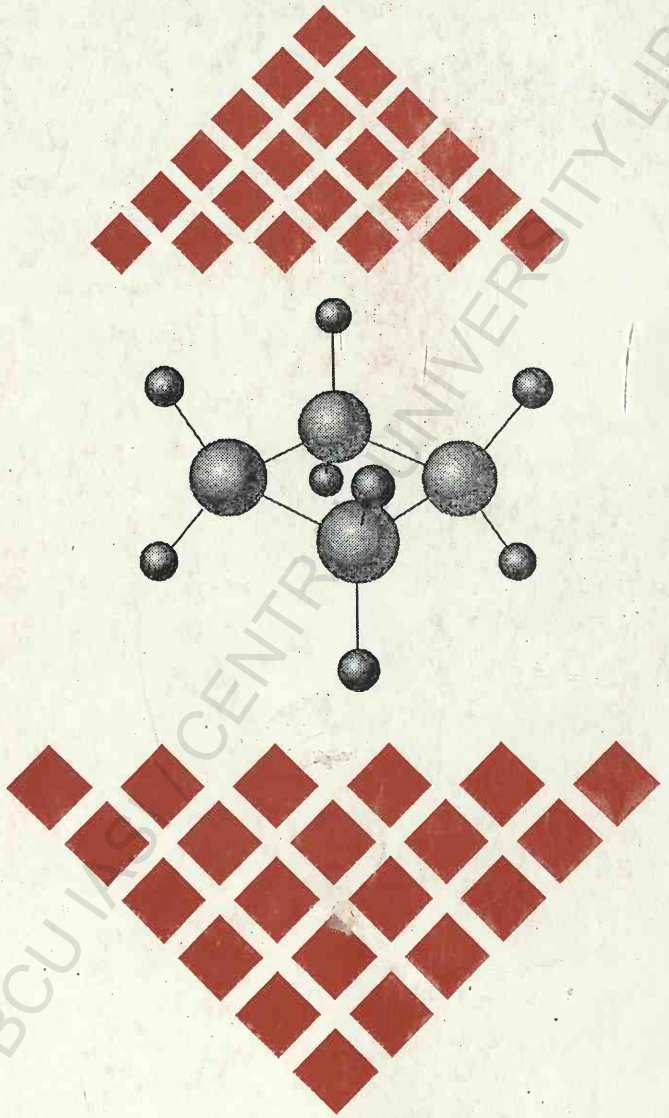
32. M. Cotrău, A. Butuc, *Toxicologie minerală*, Min. Ind. Chim., Bucureşti, 1980.
33. I. Popa, *Toxicologie,* Ed. Medicală, Bucureşti, 1978.
34. T. Stan, I. Popa, *Toxicologie generală (lucrări practice),* Lit. IMF Bucureşti, 1978.
35. T. Stan, D. Bălălău, *Toxicologie generală (lucrări practice),* Lit. IMF Bucureşti, 1986.
36. x x x *Norme republicane de protecţia muncii*, Bucureşti, 1991.

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Format 1/16 (61 × 86)
• *Bun de tipar*: 2001 • *Apărut*: 2001
Tipărit la S.C. INTER OFEN - Iaşi

BCU IAŞI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Lucrare editată în cadrul proiectului CNCSIS cod 109, cu sprijinul financiar al Guvernului României şi al Băncii Mondiale.



BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

ISBN: 973-8076-21-8